Virgil TĂMAȘ

Mihai ȘERBAN

Maria COTRUȚ

BIOCHIMIE MEDICALĂ VETERINARĂ

Scanned with OKEN Scanner

MINISTERUL EDUCAȚIEI ȘI ÎNVĂȚĂMÎNTULUI

Conf. dr. VIRGIL TĂMAȘ
Prof. dr. doc. șt. MIHAI ȘERBAN
Șef lucrări dr. MARIA COTRUȚ

BIOCHIMIE MEDICALĂ VETERINARĂ

EDITURA DIDACTICĂ ȘI PEDAGOGICĂ — BUCUREȘTI

Scanned with OKEN Scanner

PREFAȚA

Dezvoltarea și realizările remarcabile ale biochimiei — multe încununate cu Premiul Nobel — au impus-o cu autoritate ca unul din cele mai dinamice domenii în ansamblul științelor contemporane. Progresele înregistrate în sfera biochimiei au contribuit în mod creator la conturarea unor noi concepții și puncte de vedere în abordarea și investigarea proceselor biologice.

În acest context, problematica majoră a biochimiei se circumscrie următoarelor două aspecte fundamentale: studiul biomoleculelor și studiul biochimic al sistemelor biologice. Obiectivele esențiale care derivă din aceste aspecte se referă la organizarea chimică a organismelor vii sub raportul structurii, funcției și proprietăților biomoleculelor, la natura și mecanismele reacțiilor biocatalitice asociate structurilor celulare și infracelulare, la procesele biochimice ale metabolismului, la reglarea și controlul biochimic al activității celulare, la bazele moleculare ale proceselor biologice normale și patologice.

Jalonarea acestor direcții principale formează cadrul general care include principiile de bază ale elaborării acestui manual de Biochimie medicală veterinară. *Ca urmare a acumulării unor noi date și interpretări în domeniul biochimiei, autorii consideră necesară apariția unui nou manual de Biochimie animală restructurat, în scopul punerii la dispoziția studenților și specialiștilor din profilul medico-veterinar și zootehnic a unui material documentar cît mai apropiat de specialitatea lor. Prin conținutul său, acest manual urmărește însușirea cunoștințelor de biochimie absolut necesare atît pentru înțelegerea altor discipline conexe — care se bazează pe datele biochimiei — cît și pentru diferite probleme practice cu care se confruntă viitorul specialist în medicină veterinară și zootehnie. Este suficient de subliniat numai faptul că aportul biochimiei pentru depistarea existenței dereglărilor metabolice, pentru fundamentarea fenomenelor normale și patologice, pentru diagnosticarea, tratamentul și chiar profilaxia unor afecțiuni este astăzi de necontestat. Totodată, aportul și implicațiile recunoscute ale biochimiei în diferite domenii teoretice și practice ale medicinii veterinare și zootehniei reclamă cunoștințe temeinice și o argumentație științifică de natură biochimică, care, în egală măsură, se extind și în alte domenii aplicative ca: industriile prelucră-*

Scanned with OKEN Scanner

toare a produselor de origine animală, controlul sanitar-veterinar, laboratoarele clinicilor veterinare etc.

Respectînd limitele de extensibilitate impuse de considerente didactice şi ale programei analitice în vigoare, considerăm că acest manual realizează densitatea corespunzătoare de noţiuni teoretice şi cu utilitate practică abordate şi interpretate în consens cu specializarea celor pentru care este destinat. În acest sens, unor capitole li s-au dat orientări noi (protide, enzime, hormoni, topochimia celulei, partea de metabolism) introducîndu-se, totodată, capitole noi (bioenergetică), respectiv capitole speciale cu o problematică circumscrisă profilului de pregătire al studenţilor. În scopul consolidării cunoştinţelor şi noţiunilor expuse şi, pe această bază, a posibilităţii interpretării şi corelării diferitelor fenomene s-a considerat utilă introducerea după fiecare capitol a unor teste de verificare.

Observaţiile şi sugestiile colegiale ale cititorilor le considerăm binevenite, în perspectiva elaborării unei eventuale noi ediţii a manualului de Biochimie medicală veterinară.

AUTORII

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

CUPRINS

	Pag.
Prefață	3
Lista principalelor abrevieri utilizate	14
1. PRINCIPII GENERALE DE ORGANIZARE CHIMICĂ ȘI BIOCHIMICĂ A ORGANISMULUI ANIMAL (M. Șerban)	17
1.1. Definiția și obiectul biochimiei	17
1.2. Caracteristicile biochimice ale materiei vii	20
1.3. Compoziția chimică generală a organismului animal	20
1.3.1. Bioelemente	20
1.3.1.1. Poziția centrală a atomului de carbon	23
1.3.2. Biomolecule	23
1.3.2.1. Categorii de biomolecule și rolul lor biochimic	24
1.3.2.2. Ierarhia organizării moleculare	25
1.3.2.3. Natura legăturilor chimice în biomolecule	26
1.4. Apa ca solvent și mediu biologic de reacție	28
1.4.1. Conținutul și repartiția apei în organism	28
1.4.2. Rolul apei în organism	28
1.4.3. Caracteristicile structurale ale moleculei de apă	29
1.5. *p*H și soluții tampon	31
1.5.1. *p*H-ul	31
1.5.2. Soluții tampon	32
1.5.2.1. Mecanismul de acțiune al soluțiilor tampon	33
1.6. Teste de verificare	35
2. GLUCIDE (V. Tămaș)	37
2.1. Considerații generale	37
2.2. Constituție	38
2.3. Clasificare	38
2.4. Rolul glucidelor în organismele animale	39
2.5. Oze (monoglucide)	39
2.5.1. Structura și izomeria monoglucidelor	40
2.5.2. Proprietăți fizice ale monoglucidelor	45
2.5.3. Proprietăți chimice ale monoglucidelor	45
2.5.4. Monoglucide naturale mai importante	53
2.5.5. Deoxiglucide	57
2.5.6. Aminoglucide	58

Pag.

2.6. Ozide 59
2.6.1. Oligoglucide (oligozoharide sau oligozide) 59
2.6.2. Poliglucide (polizaharide sau poliholozide) 63
2.6.2.1. Poliglucide ce nu conţin aminoglucide 64
2.6.2.2. Poliglucide ce conţin aminoglucide 70
2.6.3. Heterozide 75
2.7. Teste de verificare 75
3. LIPIDE (Maria Cotruţ) 76
3.1. Consideraţii generale 76
3.1.1. Clasificarea generală a lipidelor 76
3.1.2. Rolul îndeplinit de lipide în organismele animale 77
3.1.3. Constituţie chimică generală 77
3.2. Acizi graşi 77
3.2.1. Acizi graşi cu catenă lineară saturată 78
3.2.2. Acizi graşi nesaturaţi 79
3.2.3. Hidroxiacizi 79
3.2.4. Acizi graşi cu catenă ramificată 79
3.2.5. Acizi graşi nesaturaţi cu cicluri în moleculă 82
3.2.6. Proprietăţi fizice şi chimice ale acizilor graşi 82
3.3. Lipide simple 84
3.3.1. Acilgliceroli (gliceride sau grăsimi neutre) 85
3.3.1.1. Caracterizare generală şi structură 85
3.3.1.2. Răspîndire în natură 88
3.3.1.3. Proprietăţi fizice şi chimice ale triacilglicerolilor 89
3.3.1.4. Importanţa acilglicerolilor 93
3.3.2. Steride. Compuşi steroizi 93
3.3.2.1. Steroli 95
3.3.2.2. Acizi biliari 99
3.3.3. Ceride 101
3.4. Lipide complexe 102
3.4.1. Glicerofosfolipide (glicerofosfatide) 102
3.4.1.1. Acizi fosfatidici 103
3.4.1.2. Colinfosfolípide (colinfosfatide) 103
3.4.1.3. Etanolaminofosfolipide(colaminfosfatide) 106
3.4.1.4. Serinfosfolipide (fosfatidilserine) 107
3.4.1.5. Acetalfosfolipide (plasmalogene) 108
3.4.1.6. Inozitolfosfolipide (fosfoinozitide) 110
3.4.2. Sfingolipide 112
3.4.2.1. Sfingofosfolipide 113
3.4.2.2. Sfingozidolipide (Sfingoglicolipide) 114
3.4.3. Alte lipide complexe 118
3.5. Teste de verificare 120
4. PROTIDE (M. Şerban) 121
4.1. Consideraţii generale 121
4.1.1. Caracterizarea generală a protidelor 121
4.1.2. Funcţiile protidelor 122
4.1.3. Constituţia chimică generală şi clasificarea protidelor 123
4.1.4. Distribuţia protidelor 123
4.2. Aminoacizi 124
4.2.1. Structură generală şi clasificare 124

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

4.2.2. Structura chimică a aminoacizilor constituienți ai protidelor naturale 125
4.2.2.1. Aminoacizi aciclici 125
4.2.2.2. Aminoacizi ciclici 127
4.2.3. Aminoacizi neconstituienți ai protidelor 128
4.2.4. Rolul biologic al aminoacizilor. Implicații în alimentația animalelor . . . 129
4.2.5. Proprietăți fizico-chimice ale aminoacizilor 131
4.2.6. Proprietăți chimice ale aminoacizilor 132
4.2.6.1. Proprietăți datorate grupării funcționale carboxil 133
4.2.6.2. Proprietăți datorate grupării funcționale amină 134
4.2.6.3. Proprietăți datorate participării concomitente în reacții a ambelor grupări funcționale $-COOH$ și $-NH_2$ 136
4.3. Peptide 137
4.3.1. Caracterizare generală 137
4.3.2. Proprietăți generale 139
4.3.3. Peptide naturale 139
4.4. Holoproteide 143
4.4.1. Structura proteinelor 143
4.4.1.1. Factori implicați în organizarea structurii proteinelor 143
4.4.1.2. Niveluri de organizare a structurii proteinelor 145
4.4.1.3. Variații conformaționale ale proteinelor și semnificația lor biochimică 156
4.4.1.4. Microeterogenitatea proteinelor 157
4.4.2. Morfologia moleculelor proteice 158
4.4.3. Proprietățile proteinelor 159
4.4.3.1. Proprietăți fizico-chimice 159
4.4.3.2. Proprietăți chimice 163
4.4.3.3. Proprietăți biochimice. Reacția antigen-anticorp 164
4.4.4. Descrierea sumară a unor tipuri de proteine 167
4.4.4.1. Albumine 167
4.4.4.2. Globuline 167
4.4.4.3. Histone 168
4.4.4.4. Protamine 168
4.4.4.5. Scleroproteine 168
4.5. Heteroproteide 169
4.5.1. Caracterizare generală și clasificare 169
4.5.2. Descrierea și funcțiile heteroproteidelor 170
4.5.2.1. Metalproteide 170
4.5.2.2. Fosfoproteide 171
4.5.2.3. Glicoproteide 172
4.5.2.4. Lipoproteide 173
4.5.2.5. Cromoproteide 174
4.5.2.6. Nucleoproteide 180
4.6. Acizi nucleici 180
4.6.1. Caracterizare generală 180
4.6.2. Clasificare și compoziție chimică generală 181
4.6.3. Componente structurale. Constituție chimică și proprietăți moleculare 181
4.6.3.1. Pentoze 182
4.6.3.2. Acidul fosforic (fosfat) 182
4.6.3.3. Baze azotate 182
4.6.3.4. Nucleozide 184
4.6.3.5. Nucleotide 185

Scanned with OKEN Scanner

Pag

4.6.4. Polinucleotide 189
4.6.4.1. Caracterizare generală 189
4.6.5. Structura, funcţiile şi proprietăţile moleculare ale acidului deoxiribonucleic (ADN) 190
4.6.5.1. Structura primară 190
4.6.5.2. Structura secundară şi terţiară 191
4.6.5.3. Funcţiile biologice ale ADN 194
4.6.5.4. Localizarea intracelulară a ADN. Tipuri de ADN 194
4.6.5.5. Proprietăţi generale ale ADN 195
4.6.6. Structura, funcţiile şi proprietăţile moleculare ale acizilor ribonucleici (ARN) 198
4.6.6.1. Caracterizare generală 198
4.6.6.2. Eterogenitatea moleculară a ARN. Tipuri de ARN 198
4.6.6.3. Hidroliza enzimatică a ARN 202
4.6.6.4. Localizarea intracelulară a ARN 202
4.6.7. Acizi nucleici virali 202
4.6.7.1. Caracterizarea generală a virusurilor 202
4.6.7.2. Structura chimică a virusurilor 203
4.6.7.3. Mecanismul chimic al infecţiei virale 203
4.7. Teste de verificare 204
5. ENZIME (M. Şerban) 207
5.1. Consideraţii generale 207
5.1.1. Caracteristicile generale ale enzimelor 208
5.2. Structura şi conformaţia enzimelor 208
5.3. Apoenzime şi cofactori enzimatici 212
5.3.1. Caracteristicile generale ale apoenzimei 212
5.3.2. Caracteristicile generale ale cofactorilor enzimatici 213
5.4. Organizarea structurală a enzimelor 215
5.4.1. Enzime monomere 215
5.4.2. Enzime oligomere 215
5.4.3. Izoenzime 216
5.4.4. Sisteme (complexe) multienzimatice 217
5.5. Specificitatea enzimelor 219
5.5.1. Specificitatea de substrat 219
5.5.2. Specificitatea de acţiune 220
5.6. Mecanisme implicate în cataliza enzimatică 221
5.7. Mecanismul reacţiilor enzimatice 223
5.8. Cinetica reacţiilor enzimatice 225
5.8.1. Viteza de reacţie (v) 225
5.8.2. Ordinul de reacţie 225
5.8.3. Factorii care influenţează cinetica reacţiilor enzimatice 226
5.8.3.1. Concentraţia enzimei 226
5.8.3.2. Concentraţia substratului. Constanta Michaelis 227
5.8.3.3. Efectul temperaturii 232
5.8.3.4. Efectul pH-ului 232
5.8.3.5. Efectul radiaţiilor ionizante 233
5.8.3.6. Efectori enzimatici 233
5.8.4. Cinetica reacţiilor enzimatice în prezenţa a două substraturi 237
5.8.4.1. Reacţii de simplă deplasare 237
5.8.4.2. Reacţii de dublă deplasare 239
5.9. Enzime allosterice 240
5.9.1. Postulatele structurii şi mecanismului de acţiune al enzimelor allosterice 240

Scanned with OKEN Scanner

5.9.2. Mecanismul reglării activității enzimatice prin interacțiuni sau tranziții allosterice 241
5.10. Exprimarea cantitativă a activității enzimatice 243
5.11. Clasificarea și nomenclatura enzimelor 244
5.12. Descrierea, caracterizarea și mecanismul de reacție ale unor enzime 247
5.12.1. Oxidoreductaze 247
5.12.1.1. Oxidoreductaze cu NAD^+ sau $NADP^+$ drept coenzime 247
5.12.1.2. Oxidoreductaze cu FAD sau FMN drept coenzime (flavinenzime) 250
5.12.1.3. Transelectronaze 252
5.12.1.4. Oxidaze 253
5.12.1.5. Hidroperoxidaze 255
5.12.2. Transferaze 256
5.12.1.1. Metiltransferaze 256
5.12.2.2. Aciltransferaze 257
5.12.2.3. Glicoziltransferaze 258
5.12.2.4. Aminotransferaze (transaminaze) 259
5.12.2.5. Fosfotransferaze (kinaze) 260
5.12.3. Hidrolaze 262
5.12.3.1. Esteraze 262
5.12.3.2. Glicozidaze (glicozid hidrolaze) 264
5.12.3.3. Peptidhidrolaze (peptidaze) 265
5.12.4. Liaze 269
5.12.4.1. C—C liaze 270
5.12.4.2. C—O liaze 270
5.12.4.3. C—N liaze 271
5.12.4.4. C—S liaze 271
5.12.5. Izomeraze 272
5.12.5.1. Racemaze 272
5.12.5.2. Epimeraze 272
5.12.5.3. Izomeraze cis-trans 272
5.12.5.4. Oxidoreductaze intramoleculare 273
5.12.6. Ligaze 274
5.13. Organizarea supramoleculară a enzimelor. Localizarea lor intracelulară . . . 275
5.14. Aplicații clinice ale enzimelor. Principii ale diagnosticului enzimatic 276
5.14.1. Modalități de dozare a activității enzimatice 277
5.14.2. Originea enzimelor serice (plasmatice) 277
5.14.3. Semnificații ale diagnosticului enzimatic 277
5.15. Teste de verificare 278
6. VITAMINE (M. Șerban) 282
6.1. Considerații generale 282
6.1.1. Rol și caracteristici generale 282
6.1.2. Surse de vitamine 283
6.1.3. Vitamine și provitamine 283
6.1.4. Carențe vitaminice 284
6.1.5. Antivitamine 284
6.1.6. Vitamine cu rol de coenzime 285
6.1.7. Clasificarea și nomenclatura vitaminelor 285
6.2. Descrierea și caracterizarea vitaminelor 287
6.2.1. Vitamine hidrosolubile 287
6.2.1.1. Tiamina (vitamina B_1) 287
6.2.1.2. Acidul lipoic 289
6.2.1.3. Riboflavina (vitamina B_2) 289

Scanned with OKEN Scanner

6.2.1.4. Acidul pantotenic (vitamina B_3) . . . 291
6.2.1.5. Nicotinamida (vitamina PP) . . . 292
6.2.1.6. Piridoxina (vitamina B_6) . . . 293
6.2.1.7. Biotina . . . 295
6.2.1.8. Acizii pteroilglutamici (folacina) . . . 296
6.2.1.9. Corionide (vitamine B_{12}) . . . 299
6.2.1.10. Acidul pangamic (vitamina B_{15}) . . . 301
6.2.1.11. Mezoinozitolul . . . 301
6.2.1.12. Acidul para-aminobenzoic (PABA) . . . 302
6.2.1.13. Colina . . . 302
6.2.1.14. Acidul ascorbic (vitamina C) . . . 303
6.2.1.15. Bioflavonoide (vitamine P) . . . 305
6.2.2. Vitamine liposolubile . . . 306
6.2.2.1. Retinoli (vitamine A) . . . 306
6.2.2.2. Calciferoli (vitamine D) . . . 310
6.2.2.3. Tocoferoli (vitamine (E) . . . 312
6.2.2.4. Vitamine K (menaftone) . . . 314
6.2.2.5. Ubichinone (UQn) . . . 316
6.3. Teste de verificare . . . 317
7. HORMONI (V. Tămaș) . . . 318
7.1. Considerații generale . . . 318
7.2. Glande endocrine . . . 319
7.3. Reglarea secreției hormonale . . . 319
7.4. Hormoni hipofizotropi sau factori de eliberare hipotalamici . . . 319
7.5. Forme de vehiculare și de eliminare a hormonilor . . . 322
7.6. Receptori hormonali . . . 322
7.7. Mecanisme generale de acțiune a hormonilor . . . 323
7.8. Clasificarea hormonilor . . . 326
7.9. Caracterizarea chimică și biochimică a hormonilor cu structură peptidică și proteică . . . 328
7.9.1. Hormoni hipofizari . . . 328
7.9.1.1. Hormoni adenohipofizari . . . 328
7.9.1.2. Hormoni neurohipofizari . . . 333
7.9.1.3. Hormoni ai hipofizei intermediare . . . 335
7.9.2. Hormoni pancreatici . . . 336
7.9.3. Relaxina . . . 337
7.9.4. Calcitonina sau tirocalcitonina . . . 338
7.9.5. Paratirinul sau hormonul paratiroidian . . . 338
7.9.6. Hormoni produși de rinichi . . . 339
7.9.7. Hormoni gastrointestinali . . . 339
7.9.8. Hormoni tisulari . . . 340
7.10. Caracterizarea chimică și biochimică a hormonilor derivați din aminoacizi 340
7.10.1. Hormoni tiroidieni sau iodtironine . . . 340
7.10.2. Hormoni medulosuprarenali sau catecolamine . . . 341
7.10.3. Hormonul epifizar . . . 343
7.10.4. Hormoni produși de celulele nervoase și de alte celule . . . 344
7.11. Caracterizare chimică și biochimică a hormonilor cu structură steroidică și cu structură de acizi grași speciali . . . 345
7.11.1. Hormoni cu structură steroidică . . . 345
7.11.1.1. Hormoni sexuali . . . 346
7.11.1.2. Hormoni corticosuprarenali . . . 349
7.11.2. Hormoni cu structură de acizi grași speciali . . . 351
7.12. Teste de verificare . . . 353

Scanned with OKEN Scanner

8. TOPOCHIMIA CELULEI (M. Şerban) 354
8.1. Consideraţii generale 354
8.2. Componente structurale ale celulelor eucariote. Caracterizare ultrastructurală şi biochimică 355
8.2.1. Citoplasma 355
8.2.2. Biomembrane. Procese de transport prin biomembrane 355
8.2.2.1. Organizarea structurală a biomembranelor 356
8.2.2.2. Rolul biomembranelor 358
8.2.2.3. Procese de transport prin biomembrane 358
8.2.3. Nucleul 360
8.2.4. Mitocondrii 360
8.2.5. Reticulul endoplasmatic 362
8.2.6. Aparatul Golgi 363
8.2.7. Lizozomi 364
8.2.8. Peroxizomi 365
8.3. Teste de verificare 365
9. BIOENERGETICĂ (M. Şerban) 366
9.1. Consideraţii generale 366
9.2. Principiile termodinamicii 367
9.2.1. Energetica tranziţiilor de stare 367
9.2.2. Primul principiu al termodinamicii 367
9.2.2.1. Energia internă 368
9.2.2.2. Entalpia 368
9.2.3. Al doilea principiu al termodinamicii 369
9.3. Energia liberă 370
9.3.1. Energia liberă şi reacţiile de oxidoreducere 372
9.3.1.1. Reacţii de oxidare şi reacţii de reducere 372
9.3.1.2. Oxidoreducerea 372
9.4. Compuşi macroergici 374
9.4.1. Adenozintrifosfatul (ATP) 375
9.4.2. Acilfosfaţi 377
9.4.3. Enoil fosfaţi 378
9.4.4. Tioesteri 378
9.4.5. Guanidin fosfaţi 379
9.4.6. Nicotinamidadenin dinucleotide 380
9.5. Reacţii bioenergetice cuplate 382
9.6. Teste de verificare 383
10. METABOLISM (V. Tămaş) 384
10.1. Introducere în studiul metabolismului 384
10.2. Procese de oxidoreducere în celulele vii 387
10.2.1. Catena oxidării celulare sau oxidarea terminală 388
10.3. Ciclul Krebs 393
10.4. Metablismul glucidelor 400
10.4.1. Mecanismul digestiei, absorbţiei, vehiculării şi depozitării glucidelor 400
10.4.2. Catabolismul glucidelor 403
10.4.2.1 Catabolismul anaerob. Glicoliza 404
10.4.2.2. Catabolismul aerob 413
10.4.2.3. Alte căi de catabolizare a glucidelor 415
10.4.3. Anabolismul glucidelor 418
10.4.4. Metabolismul fructozei 425
10.4.5. Metabolismul galactozei 425
10.4.6. Metabolisul diglucidelor 427

Scanned with OKEN Scanner

10.4.7. Metabolismul mucopoliglucidelor 427
10.4.8. Reglarea şi dereglarea metabolismului glucidelor. Glicemia 428
10.5 .Metabolsmul lipidelor 430
10.5.1. Mecanismul digestiei, absorbţiei, vehiculării şi depozitării lipidelor 431
10.5.2. Metabolismul acizilor graşi. Catabolismul acizilor graşi 437
10.5.2.1. Catabolismul acizilor graşi saturaţi 442
10.5.2.2. Catabolismul acizilor graşi nesaturaţi 443
10.5.2.3. Catabolismul acizilor graşi ramificaţi cu număr par şi impar de atomi de carbon 444
10.5.3. Destinaţia acetil-coenzimei A şi formarea corpilor cetonici. Cetogeneza şi cetoliza 447
10.5.4. Anabolismul acizilor graşi 450
10.5.5. Metabolismul gliceridelor 457
10.5.6. Metabolismul steridelor 460
10.5.7. Metabolismul ceridelor 463
10.5.8. Metabolismul glicerofosfolipidelor 463
10.5.9. Metabolismul sfingolipidelor 468
10.5.10. Dereglări ale metabolismului lipidelor 472
10.6. Metabolismul protidelor 472
10.6.1. Mecanismul digestiei, absorbţiei şi vehiculării protidelor 473
10.6.2. Metabolismul aminoacizilor 475
10.6.2.1. Procese generale de catabolizare a aminoacizilor 476
10.6.2.2. Destinaţia grupării NH_2 479
10.6.2.3. Catabolismul specific al unor aminoacizi 484
10.6.2.4. Anabolismul aminoacizilor. 500
10.6.3. Metabolismul compuşilor cu structură porfirinică 503
10.6.3.1. Biosinteza porfirinelor 504
10.6.3.2. Catabolismul porfirinelor 509
10.6.4. Metabolismul acizilor nucleici 511
10.6.4.1. Biosinteza bazelor purinice şi pirimidinice 512
10.6.4.2. Biosinteza nucleozidelor şi nucleotidelor 516
10.6.4.3. Biosinteza acizilor nucleici 517
10.6.4.4. Catabolismul acizilor nucleici 521
10.6.5. Metabolismul proteinelor 523
10.6.5.1. Catabolismul proteinelor 524
10.6.5.2. Biosinteza proteinelor 524
10.7. Circuitul hidromineral (Maria Cotruţ) 534
10.7.1. Apa în organismele animale 535
10.7.2. Sodiul şi clorul 535
10.7.3. Potasiul 537
10.7.4. Calciul şi fosforul 538
10.7.5. Magneziul 539
10.7.6. Fierul 540
10.7.7. Cuprul 542
10.7.8. Zincul 543
10.7.9. Manganul 543
10.7.10. Cobaltul 544
10.7.11. Seleniul. 545
10.7.12. Fluorul 546
10.7.13. Iodul. 547
10.8. Corelaţii între metabolismele intermediare 548
10.9. Teste de verificare 548

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLE SPECIALE

11. BAZELE BIOCHIMICE ALE CONTRACȚIEI MUSCULARE (M. Șerban) . . . 551
11.1. Considerații generale . . . 551
11.2. Ultrastructura miofibrilelor . . . 551
11.3. Compoziția chimică a mușchiului striat . . . 553
11.3.1. Proteine musculare . . . 553
11.4. Sursele de energie ale contracției musculare . . . 555
11.5. Mecanochimia contracției musculare . . . 557
11.6. Mecanismul biochimic al contracției musculare . . . 559
12. PRINCIPII DE PATOLOGIE MOLECULARĂ (M. Șerban) . . . 561
12.1. Definirea conceptelor . . . 561
12.2. Abordarea genetică a patologiei moleculare . . . 563
12.2.1. Dereglări calitative . . . 563
12.2.1.1. Bazele moleculare ale dereglărilor calitative . . . 565
12.2.2. Dereglări cantitative . . . 566
13. BIOCHIMIA PIGMENȚILOR ANIMALI (V. Tămaș) . . . 568
13.1. Considerații generale . . . 568
13.2. Chinone . . . 568
13.3. Flavonoide . . . 569
13.4. Flavine . . . 569
13.5. Ommocromi . . . 569
13.6. Pterine . . . 570
13.7. Pigmenți tetrapirolici . . . 570
13.8. Indigoide . . . 571
13.9. Melanine . . . 571
13.10. Carotinoide sau pigmenți carotinoridici . . . 573
14. IMPLICAȚII BIOCHIMICE ALE POLUĂRII ÎN ZOOTEHNIE (M. Șerban) 580
14.1. Chimizarea agriculturii și zootehnia . . . 580
14.2. Surse de poluare și efecte generale asupra organismului . . . 581
14.3. Aspecte biochimice . . . 581
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ . . . 583
Index alfabetic . . . 585

Scanned with OKEN Scanner

LISTA PRINCIPALELOR ABREVIERI UTILIZATE

A	adenină
AA	aminoacid
AAL	acid aminolevulinic
AAS	aminoacilsintetază
AA ~ t-ARN	aminoacil-t-ARN
Acetil-CoA	acetilcoenzimă A
ACTH	corticotropină
ADH	alcooldehidrogenază
ADN sau DNA	acid deoxiribonucleic
ADP	adenozindifosfat
Ad	adenozină
AGE	acizi graşi esenţiali
AGNE	acizi graşi neesterificaţi
ALip	acil-dihidrolipoic
AMP	adenozinmonofosfat
AMPc	adenozinmonofosfat ciclic
ANNA	acid neuraminic N-acetilat
APG	acid pteroilglutamic
ARN sau RNA	acid ribonucleic
mARN	acid ribonucleic mesager
rARN	acid ribonucleic ribozomal
sARN	acid ribonucleic solubil
tARN	acid ribonucleic de transfer (= sARN)
ATP	adenozintrifosfat
ATC	ciclul acizilor tricarboxilici
Carbamil-P	carbamilfosfat
C	citozină
CDP	citidindifosfat
Cis	cisteină
Cis-Cis	cistină
Cit	citocrom
CMP	citidinmonofosfat
CP	creatinfosfat
CoA	coenzimă A
CoF	coenzimă F
CTP	citidintrifosfat
DOC	deoxicorticosteronă
DOPA	dihidroxifenilalanină
FAD	flavinadenindinucteotid (formă oxidată)
$FADH_2$	flavinadenindinucteotid (formă redusă)
FMN	flavinmononucleotid (formă oxidată)
FSH	folitropină
G	guanină
GalNa	galactozamină N-acetilată
GDP	guanozindifosfat
GDH	glutamindehidrogenază
GH	somatotropină
Glc	glucoză
GMP	guanozinmonofosfat
GOT	glutamatoxalat-transaminază
GPT	glutamatpiruvat-transaminază
GTP	guanozintrifosfat
Hb	hemoglobină
HbO_2	oxihemoglobină
GCH	gonadotropină corionică umană
ICSH	hormon stimulator al celulelor interstiţiale
IDP	inozindifosfat
Ileu	izoleucină
IMP	inozinmonofosfat
ITP	inozintrifosfat

Scanned with OKEN Scanner

LCAT	lecitin-colesterol-acil-transferază
LDH	lactatdehidrogenază
LH	luteotropină
MSH	melanotropină
NAD^+	nicotinamidadenindinucleotid oxidat
NADH	nicotinamidadenindinucleotid redus
$NADP^+$	nicotinamidadenindinucleotidfosfat oxidat
NADPH	nicotinamidadenindinucleotidfosfat redus
P sau P_i	fosfat anorganic
PE	proteinenzimă
PG	prostaglandină
PP_i	pirofosfat anorganic
PRPP	fosforibozilpirofosfat
PTA	proteină transportoare de acil
Rib	ríboză
dRib	deoxiriboză
STH	somatotropină
T	timină
T_4	tiroxină
THF	acid tetrahidrofolic
TPP	tiaminpirofosfat
TSA	tiamin-succinat-semialdehidă
TSH	tirotropină
TTP	timidintrifosfat
U	uracil
UDP	uridindifosfat
UMP	uridinmonofosfat
UTP	uridintrifosfat
UDP-Gal	galactozouridildifosfat
UDP-Glc	glucozouridildifosfat
UQ	ubichinonă oxidată
UQH_2	ubichinonă redusă
Xil	xiloză
Xul	xiluloză

Scanned with OKEN Scanner

1

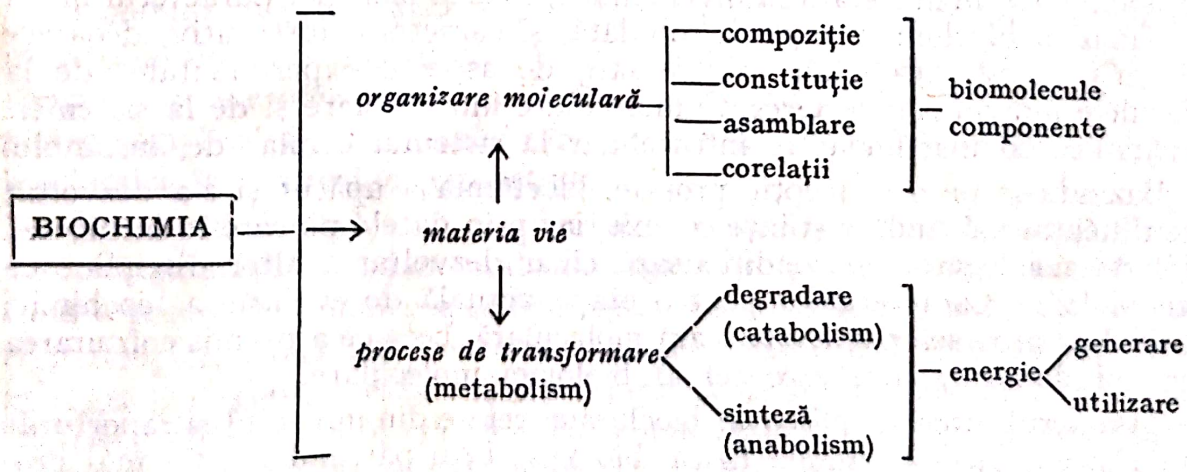
1. PRINCIPII GENERALE DE ORGANIZARE CHIMICĂ ȘI BIOCHIMICĂ A ORGANISMULUI ANIMAL

1.1. DEFINIȚIA ȘI OBIECTUL BIOCHIMIEI

Dezvoltarea impetuoasă a biochimiei în ultimele decenii reprezintă un remarcabil capitol în istoria științei. Progresele și realizările biochimiei în ultimele decenii au impus-o ca unul din cele mai dinamice domenii în ansamblul științelor contemporane, cu implicații profunde în diferite ramuri ale biologiei teoretice și aplicate.

Definită într-o accepțiune generală, biochimia este știința care studiază materia vie și fenomenele specifice acesteia sub raportul *organizării moleculare, al compoziției și constituției chimice, al asamblării și corelațiilor biomoleculelor componente*, precum și al *proceselor de transformare* (degradare și biosinteză) a acestor biomolecule prin care se generează și se utilizează energia necesară manifestărilor vitale.

Această definiție poate fi redată sub forma următoarei scheme:



Rezultă astfel că abordarea biochimică a studiului materiei vii implică două aspecte și anume: a) *identificarea, descrierea* și *inventarierea* substanțelor care intră în alcătuirea materiei vii, precum și stabilirea naturii chimice a acestora; b) *cunoașterea și corelarea proceselor, a căilor și mecanismelor de transformare* permanentă a substanțelor proprii materiei vii, transformare

Scanned with OKEN Scanner

care constituie substratul material al vieţii şi care determină dinamismul specific al acesteia.

Biochimia cercetează materia vie în *unitatea ei dialectică structurală şi funcţională*, pe baza corelaţiilor legice dintre natura, proprietăţile şi funcţiile biocomponentelor pe de o parte şi procesele de transformare a acestora pe de altă parte; aceste corelaţii asigură integrarea şi coordonarea biochimică şi funcţională a tuturor proceselor caracteristice formei biologice de mişcare a materiei.

În interdependenţă cu mediul ambiant, materia vie este sediul unui triplu flux: de *materie*, de *energie* şi de *informaţie*. Materia vie se prezintă într-o enormă diversitate de forme şi este rezultatul unui îndelungat proces de evoluţie. În cadrul acestei diversităţi biochimia a validat concepţia asupra *unităţii materiale* a lumii vii; această unitate rezultă din similitudinea compoziţiei chimice, a sistemului de organizare biochimică, a proceselor biochimice, precum şi a unor principii comune aplicabile tuturor formelor de viaţă. Rezultă implicit că, în esenţă, biochimia este unică atît prin conţinutul şi strategia ei, cît şi prin modul de interpretare şi generalizare a fenomenelor; acest caracter îi este conferit de însăşi unitatea compoziţiei chimice şi a proceselor biochimice care definesc orice sistem viu.

Principiul universal al unităţii biochimice a materiei vii îşi găseşte cea mai elocventă expresie în conceptul de *metabolism*, concept care defineşte în ultimă analiză *esenţa materială a vieţii şi dinamismul acesteia*. Un sistem se poate numi viu numai în măsura în care, în cadrul lui, se realizează un ansamblu de reacţii metabolice a căror coordonare este asigurată prin mecanisme biochimice de reglare şi control metabolic.

Deslușirea, înţelegerea şi aprofundarea la nivel molecular a acestor reţele complexe de reacţii metabolice în interacţiune formează unul din obiectivele majore ale biochimiei contemporane.

Caracterul interdisciplinar al biochimiei. Prin conţinutul şi evoluţia sa, biochimia constituie o ştiinţă modernă, „de frontieră", avînd un caracter complex, interdisciplinar.

Abordarea biochimică a sistemelor vii se bazează pe corelaţia dintre manifestarea unor principii chimice, fizice şi biologice; în consecinţă, procesele biochimice trebuie cercetate şi interpretate nu în mod izolat, ci în interdependenţa lor manifestată la nivel chimic, fizic şi biologic. Caracterul interdisciplinar al biochimiei implică, totodată, şi caracterul integrativ, deoarece biochimia investighează un spectru larg de aspecte experimentale: de la moleculele individuale la agregate moleculare infracelulare şi de la sistemele topochimice compartimentate intracelular la sistemul celular de ansamblu.

Bazîndu-se pe o concepţie proprie, biochimia a apărut şi s-a dezvoltat la confluenţa mai multor ştiinţe conexe, iar prin datele pe care le furnizează stabileşte noi legături şi condiţionează chiar dezvoltarea altor discipline cu profil biologic. Caracteristică pentru etapa actuală de evoluţie a biochimiei este analiza proceselor vitale la scară moleculară, ceea ce a permis conturarea unor noi domenii, cum este cel al biologiei moleculare.

Caracterul interdisciplinar al biochimiei reiese din impactul şi raporturile sale cu alte ştiinţe ca: chimia, fizica, biologia. Prin pătrunderea tot mai profundă şi pe o scară tot mai largă a fizicii şi chimiei în cercetarea aspectelor fundamentale ale materiei vii, ca şi prin necesitatea descifrării sensului biologic al acestor aspecte, în corelaţie cu alte discipline biologice, procesul de confluenţă interdisciplinară s-a accentuat în biochimie, conferindu-i acesteia noi coordonate.

Scanned with OKEN Scanner

Biochimia a dobîndit în cadrul ştiinţelor biologice teoretice şi aplicate o importanţă primordială, avînd implicaţii profunde pentru dezvoltarea acestor ştiinţe. Trăsătura actualei etape de dezvoltare pe care o parcurge biochimia este imprimată pe de o parte de procesul de interpenetraţie teoretică şi faptică dintre biochimie şi ştiinţele conexe, respectiv de adîncirea caracterului său interdisciplinar, iar pe de altă parte de evoluţia metodologiei experimentale de care beneficiază astăzi biochimia. Datele teoretice şi experimentale obţinute în ultimele decenii au avut implicaţii profunde pentru orientarea şi dezvoltarea biochimiei ca ştiinţă „de vîrf" şi au contribuit la elaborarea unor noi concepte, care constituie puncte cardinale în evoluţia cunoştinţelor noastre asupra materiei vii. Totodată, s-a conturat cu pregnanţă necesitatea abordării şi elucidării proceselor biochimice la nivelul molecular, în care sînt intricate reacţiile coordonate ale sistemelor organizate. De aceea, actuala etapă de dezvoltare a biochimiei poate fi definită ca *etapa moleculară şi de sisteme.*

Abordarea şi investigarea bazelor moleculare ale sistemelor vii, precum şi ideea că procesele vitale pot fi exprimate în termenii unor principii fizice şi chimice trebuie să fie în mod legic corelate cu orientarea biologică a biochimiei, condiţie indispensabilă pentru cunoaşterea, înţelegerea şi aprofundarea acestor procese.

Biochimia beneficiază astăzi de un arsenal metodologic complex şi adecvat abordării aspectelor caracteristice celor două categorii de probleme majore care intră în preocupările acestei ştiinţe şi anume: *studiul biomacromoleculelor* şi *studiul biochimic al sistemelor biologice.*

În prima categorie, se încadrează aspecte care se pretează unei abordări metodologice structurale şi funcţionale, precum şi unei interpretări fizice şi chimice, avînd ca obiect entităţi bine definite. În a doua categorie, se încadrează aspecte cu profil biologic mai pronunţat, cum ar fi procesele celulare complexe fie la nivelul celulelor ca atare, fie la nivelul formaţiunilor celulare.

Progresele înregistrate în domeniul biochimiei au contribuit în mod creator la conturarea unor noi concepţii şi puncte de vedere în abordarea şi studierea proceselor biologice. În acest context, biochimia deţine un rol esenţial în ansamblul medicinei veterinare şi al zootehniei, fiind confruntată cu numeroase obiective de o deosebită semnificaţie teoretică şi aplicativă. În concordanţă cu aceste obiective, studiul biochimiei contribuie astfel efectiv la formarea complexă a specialistului care trebuie să cunoască şi să aplice cuceririle biochimiei în domeniile respective.

Prin studiul biochimiei, studentul trebuie să dobîndească şi să-şi însuşească principiile fundamentale de organizare şi funcţionare la nivel molecular a proceselor chimice specifice organismului animal, în condiţii normale şi patologice. Biochimia constituie astfel fundamentul ştiinţific pe care se grefează şi se consolidează cultura complexă de specialitate de care, în final, va trebui să beneficieze practica. În scopul realizării acestui ţel, viitorul specialist în medicină veterinară şi zootehnie trebuie să stabilească punţile de legătură între biochimie şi celelalte discipline formative, pentru a cunoaşte esenţa fenomenelor în toată complexitatea lor, pentru a discerne corelaţia acestora în funcţie de diferiţi parametri şi pentru a acţiona astfel în mod creator.

Scanned with OKEN Scanner

Materia vie se caracterizează printr-un ansamblu de principii de organizare și funcționare la nivel molecular, precum și prin trăsături definitorii care o deosebesc profund de materia nevie. Caracteristicile esențiale care definesc noțiunea de viu pot fi rezumate astfel :

— Organismele vii sînt *sisteme deschise*, în permanent schimb cu mediul ambiant, a căror însușire fundamentală o reprezintă metabolismul; materia vie se caracterizează printr-un dinamism continuu, determinat de un ansamblu de reacții coordonate și autoreglate;

— Organismele vii posedă un înalt grad de organizare și complexitate la care participă diferite tipuri de molecule și macromolecule cu structuri variate; fiecare componentă chimică a materiei vii (fie ca molecule integrate în structurile intracelulare, fie ca molecule individuale ale celulei) posedă anumite *funcții specifice*;

— Materia vie constituie o stare *calitativ superioară*, însușire care îi este conferită atît de natura, structura și asamblarea biomoleculelor componente cît și de interacțiunile dintre colecțiile de molecule specifice;

— Organismele vii manifestă capacitatea de a „extrage" și *transforma energia* din mediul extern, adaptînd-o și utilizînd-o pentru edificarea propriilor structuri, precum și pentru menținerea organizării structurale;

— Materia vie prezintă capacitatea de *autoreplicare* precisă din generație în generație în forme identice ca masă, conformație, structuri interne și proprietăți; alături de metabolism, proprietatea de autoreproducere poate fi considerată ca chintesența stării de viu;

— Unitatea morfologică și funcțională a materiei vii este *celula*, care constituie *modulul* vieții. Celula, ca entitate, conține echipamentul de bază complet pentru menținerea și continuitatea vieții. Acest echipament este comun tuturor celulelor, indiferent de varietatea și caracteristicile acestora (formă, dimensiuni, funcții) și cuprinde următoarele sisteme cheie: *un sistem de membrane* care delimitează celula, compartimentează interiorul ei și controlează economia chimică a celulei; *un sistem pentru reproducerea copiilor* exacte ale celulei; *un sistem pentru potențarea activităților celulare*, respectiv un sistem coordonat de reacții generatoare de energie.

Sub raport biochimic, celula este o expresie a unui set universal de sisteme, proprietăți și principii aplicabile tuturor formelor de viață, precum și a unui model unic de arhitectură moleculară și structurală.

1.3. COMPOZIȚIA CHIMICĂ GENERALĂ A ORGANISMULUI ANIMAL

Compoziția chimică generală a organismului animal este redată în tabelul 1—1.

1.3.1. BIOELEMENTE

Compoziția chimică elementară de bază a materiei vii este comună pentru toate organismele. În principiu, materia vie este constituită din aceleași elemente chimice care există și în materia anorganică. Proporția unora dintre acestea și modul lor de combinare pentru a forma substanțe specifice materiei

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 1—1

Compoziția chimică generală a organismului animal

- *Compoziția chimică*
  - *Bioelemente*
    - *Plastice*
      - *Nemetale*: C, O, H, N, S, P, Cl
      - *Metale*: Na, K, Ca, Mg
    - *Oligoelemente*: Fe, Co, Mn, Cu, Mo, I, Br, F, B
  - *Biomolecule*
    - *Anorganice*
      - *Apă*
      - *Săruri minerale*
        - *Anioni*: PO_4^{3-}, CO_3^{2-}, SO_4^{2-}, Cl^-, I^-
        - *Cationi*: Na^+, K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}
    - *Organice*
      - *Rol plastic și energetic*
        - — Protide
        - — Lipide
        - — Glucide
      - *Rol informațional*
        - — Acizi nucleici
      - *Rol catalitic*
        - — Enzime
      - *Rol de reglare*
        - — Enzime
        - — Vitamine
        - — Hormoni
      - *Rol energetic*
        - — Compuși macroergici

vii sînt însă esențial diferite, în raport cu materia anorganică. Astfel, din cele aproximativ o sută de elemente chimice ale sistemului periodic întîlnite în litosferă și atmosferă, a fost selectat un număr relativ mic de elemente chimice primordiale pentru alcătuirea materiei vii. Aceste elemente alcătuiesc așa-numita *„listă de bază universală"* a compoziției elementare a oricărui organism viu; ea este constituită din:

— *sextetul de metaloizi*: C, O, H, N, S, P care reprezintă *elementele-cheie*, primordiale pentru organizarea structurii marii majorități a moleculelor care compun materia vie și din

— *grupul de șapte metale*: Na, K, Ca, Mg, Fe, Co, Mn care reprezintă elementele componente *necesare* pentru organismele vii. Proporția metaloizilor este însă cu mult superioară (~98%), în comparație cu cea a metalelor.

Elementele chimice prezente în materia vie poartă denumirea de *bioelemente*. Deși în compoziția acesteia au fost identificate aproximativ 50 bioelemente, totuși distribuția lor cantitativă este foarte diferită, după cum rezultă din tabelul 1—2. De exemplu, cele patru elemente O, C, H, N se găsesc în cea mai mare abundență în organismul viu, ele reprezentînd peste 96% din masa celulelor.

În funcție de proporțiile existente și de rolul lor în organism, bioelementele se clasifică în plastice, oligobioelemente și ultramicrobioelemente.

Bioelementele plastice sau *macrobioelementele* se găsesc în proporția cea mai mare constituind peste 99% din totalul bioelementelor. Ele includ *metaloizii*: O, C, H, N, P, S, Cl și *metalele*: Na, K, Ca, Mg. Bioelementele cu rol plastic reprezintă componenți principali care participă la edificarea structurii diferitelor substanțe din organism, intrînd în constituția tuturor celulelor, precum și în compoziția lichidelor biologice.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 1—2

Distribuția cantitativă a unor bioelemente în organismul animal (valori procentuale medii/masă corporală)

Bioelemente	%		Bioelemente	%
Oxigen	63,0	96,7	Sulf	0,20
Carbon	19,3		Clor	0,20
Hidrogen	9,3		Fosfor	1,16
Azot	5,1		Sodiu	0,11
Calciu	2,0		Magneziu	0,04
Potasiu	0,20			

Oligobioelementele sau *microbioelementele* se găsesc în cantități extrem de mici ($< 0{,}01\%$) sau chiar urme și sînt inegal distribuite în diferite țesuturi. Deși nu participă efectiv la constituția celulelor, ele dețin totuși un rol important întrînd în structura chimică a unor biomolecule ca enzime (Zn^{2+}, Mn^{2+}, Cu^{2+} etc.), hormoni (I), vitamine (Co), hemoglobină (Fe). Prezența lor este necesară întrucît contribuie la dezvoltarea normală a organismului, lipsa lor determinînd anumite dereglări biochimice și tulburări fiziologice. Din categoria oligobioelementelor fac parte: F, I, Br, B, Mn, Fe, Co, Cu, Zn, Mo etc.

Ultramicrobioelementele se găsesc în proporții infime, neconstante în organism sau apar ca elemente contaminante (Ag, Ba, Sr, Be).

Bioelementele cantitativ predominante aparțin primelor trei perioade ale sistemului periodic, și anume: H, C, N, O perioadelor I și a II-a, Na, Mg, P, S, Cl perioadei a III-a. În alcătuirea chimică a organismelor participă, în general, elemente chimice cu *mase atomice mici*. În acest sens, este de remarcat că grupul de elemente-cheie caracteristic compoziției chimice a materiei vii include atomi cu mase, respectiv cu raza atomică cea mai mică, care — pentru a dobîndi o configurație stabilă — trebuie să cîștige un electron (H), doi electroni (O), trei electroni (N), patru electroni (C), cinci electroni (P) și respectiv șase electroni (S). Proprietățile acestui set de atomi sînt, așadar, adecvate pentru a permite participarea lor la formarea diverselor biomolecule specifice organizării și funcționării celulei. Acești atomi formează cele mai stabile legături cînd se unesc cu alți atomi, prin împărțirea în comun a unei perechi de electroni. Pe lîngă aceasta, cele patru elemente — C, O, N, H — posedă proprietatea comună de a forma ușor asemenea legături covalente și de a reacționa unul cu altul pentru a-și completa învelișurile exterioare de electroni. De asemenea, trei din aceste elemente (C, N și O) pot să pună în comun fie una, fie două perechi de electroni pentru a forma o legătură simplă (σ) sau respectiv o legătură dublă ($\sigma + \pi$), proprietate care le conferă o considerabilă capacitate de a constitui biomolecule cu structuri chimice variate.

În fine, C, O, N și H prezintă și particularitatea că sînt cele mai ușoare elemente capabile de a forma legături covalente. Această particularitate, corelată cu faptul că forța, respectiv tăria unei legături covalente este în raport invers cu masele atomice ale atomilor legați, prezintă o semnificație

majoră pentru organizarea chimică a materiei vii. Rezultă astfel că pentru alcătuirea chimică a organismelor au fost selectate acele elemente chimice care sînt dotate cu capacitatea de a forma cele mai puternice legături chimice (covalente).

1.3.1.1. POZIȚIA CENTRALĂ A ATOMULUI DE CARBON

Marea majoritate a componentelor chimice ale organismului viu reprezintă edificii moleculare constituite din atomi de carbon; ceilalți atomi care compun diferitele molecule organice (biomolecule) sînt grefați pe scheletul format din atomii de carbon.

Importanța atomului de carbon rezultă nu numai din proporția mare în care participă la alcătuirea chimică a organismelor, dar și dintr-o serie de proprietăți deosebite pe care le deține, esențiale pentru chimia sistemelor vii. Astfel:

— atomii de carbon au capacitatea de a interacționa unii cu alții pentru a forma legături covalente stabile de tip carbon-carbon; în virtutea acestei proprietăți, se pot genera lanțuri de atomi de carbon de dimensiuni diferite și modele structurale variate (biomolecule și biomacromolecule);

— tetravalența atomului de carbon, respectiv configurația sa tetraedrică au o profundă semnificație, deoarece conferă posibilitatea ca diferite tipuri de molecule organice să formeze anumite straturi sau rețele tridimensionale;

— atomii de carbon legați covalent pot constitui baza pentru o întreagă varietate de biomolecule; deoarece atomii de carbon formează ușor legături covalente cu atomii de O, N, H și S, rezultă că diferite grupări funcționale pot fi introduse pentru a se forma biomolecule cu structuri variate;

— compușii pe care-i formează carbonul se găsesc în stare redusă (grad înalt de hidrogenare) în organismele vii; dimpotrivă, compușii carbonului existenți în litosferă se află în stare oxidată (carbonați, bicarbonați etc.);

— compușii carbonului existenți în stare redusă în materia vie sînt bogați în energie deoarece pentru sinteza lor organismele trebuie să cheltuiască energie liberă.

Se poate, deci, conchide că atomul de carbon prezintă o serie de caracteristici determinante pentru formarea moleculelor specifice care intră în alcătuirea chimică a tuturor formelor de viață. Compușii carbonului sînt profilați pentru realizarea proceselor biochimice vitale, atomul de carbon fiind selectat ca element chimic esențial pentru constituția materiei vii, în ciuda răspîndirii sale restrînse în litosferă, precum și a faptului că existența sa în stare redusă în organismele vii necesită cheltuială de energie.

1.3.2. BIOMOLECULE

Conceptul de biomolecule implică ansamblul diferitelor tipuri de molecule integrate în materia vie care condiționează organizarea biochimică structurală și funcțională specifică tuturor formelor vii. Tipurile de biomolecule sînt componente ubicvitare ale materiei vii și se caracterizează printr-o mare varietate. Generalizînd, se poate considera că există o „listă universală" de biomolecule care este comună tuturor celulelor. Biomoleculele care participă la realizarea sistemelor biochimice de bază ale celulelor manifestă astfel trăsături caracteristice comune în repertoriul vast al lumii vii.

Scanned with OKEN Scanner

Biomoleculele diferă prin natura, structura, dimensiunile și funcțiile pe care le îndeplinesc în cadrul celulei. Pe baza acestor criterii, componentele moleculare constituente ale organismului animal se clasifică în biomolecule anorganice și biomolecule organice.

Biomoleculele anorganice. Acestea sînt reprezentate de apă și săruri minerale.

Apa constituie componentul chimic cu cea mai ridicată proporție din organismul animal (în medie 60%), îndeplinind un rol fundamental ca solvent și mediu lichid în care se realizează reacțiile biochimice. Conținutul apei variază în funcție de specie, țesut și vîrstă. Apa conține în stare dizolvată substanțe anorganice ionizate (cationi și anioni) și substanțe organice cu molecule mici, iar sub formă de suspensie coloidală unele macromolecule.

Sărurile minerale constituie aproximativ 3—5% și sînt reprezentate în principal prin cloruri, fosfați, azotați de sodiu, potasiu, calciu, magneziu. Sărurile minerale se găsesc fie dizolvate în mediul apos al celulei și în lichidele circulante, fie în combinație cu proteinele din constituția citoplasmei sau sub formă nedizolvată în țesutul osos și dinți. Unii ioni proveniți prin disocierea sărurilor minerale se absorb pe suprafața coloizilor (micele) celulari determinînd încărcarea electrică a acestora, iar alții intervin în diferite reacții biochimice ale metabolismului celular.

Biomolecule organice. Principalele categorii de biomolecule organice specifice tuturor organismelor sînt reprezentate prin: *protide, acizi nucleici, enzime, glucide, lipide, vitamine, hormoni, compuși macroergici, compuși organici intermediari.*

Biomoleculele organice îndeplinesc în cadrul celulei diferite roluri, și anume: *plastic* (structural), *catalitic, energetic, informațional, reglator.* Astfel, unele biomolecule (protide, lipide, glucide) participă la structura celulei, a membranelor și a formațiunilor intracelulare, determinînd prin asamblarea lor edificiul molecular al celulei; alte biomolecule cu rol catalitic participă la desfășurarea coordonată și la reglarea (controlul) tuturor reacțiilor biochimice necesare activității celulare funcționînd ca biocatalizatori (enzime); unele biomolecule îndeplinesc rolul de stocare, transmitere și exprimare a informației ereditare (acizii nucleici); altele servesc drept surse primare de energie (glucide, lipide) care, supuse unor procese de degradare, eliberează energia necesară funcțiilor vitale ale celulei, energie ce poate fi acumulată în anumite tipuri de molecule (compuși macroergici); în fine, alte biomolecule modulează activitățile chimice ale celulei, ca reglatori ai diferitelor procese (vitamine, hormoni). Rezultă astfel că diferitele categorii de biomolecule asigură, prin specificul lor, organizarea structurală a celulei și desfășurarea coordonată a multiplelor evenimente la nivel molecular care definesc activitatea celulei în ansamblul ei.

Ca dimensiuni, biomoleculele acoperă un domeniu extrem de larg, de la masa moleculară 18 pentru apă pînă la masa moleculară de cîteva milioane pentru acidul deoxiribonucleic (ADN). Conținutul în molecule de talie mică și respectiv în macromolecule prezintă o variație enormă de la un tip de celulă la altul, numărul și dimensiunea diferitelor biomolecule variind în raport cu structura și funcția celulelor. Organismele mai complexe conțin o mare varietate de biomolecule. De exemplu, în organismele animale pot exista pînă la 5 milioane de tipuri diferite de proteine. Este de remarcat faptul că fiecare specie posedă propriul său set distinct de molecule proteice

Scanned with OKEN Scanner

și acizi nucleici. Ținînd seamă că în natură se cunosc aproximativ 1,5 milioane specii de organisme cu complexități diferite, se poate estima că toate aceste forme de viață conțin un număr impresionant (între 10^{10} și 10^{12}) de tipuri diferite de molecule proteice, ca și de acizi nucleici (aproximativ 10^{10}). Dimensiunile, forma și caracteristicile biomoleculelor sînt extrem de importante pentru participarea lor la edificarea componentelor structurale ale celulei, precum și pentru specificitatea interacțiunilor lor biochimice.

Tabelul 1—3

Distribuția cantitativă a principalelor componente organice și anorganice la diferite specii (valori procentuale medii)

Specia	Protide %	Lipide %	Glucide %	Apă %	Săruri minerale %
Taurine	16,8	17,2	1,7	60,4	3,9
Suine	15,0	23,0	1,2	58,0	2,8
Ovine	16,0	19,0	1,6	60,0	3,4
Cabaline	17,0	16,7	1,8	60,0	4,5
Păsări	21,0	18,2	1,6	56,0	3,2

Componentele biochimice de natură organică cu rol plastic, energetic sau de rezervă (protide, glucide, lipide) reprezintă, în medie, 35—40% din masa organismului animal. În tabelul 1—3 se prezintă valorile procentuale medii ale principalelor biomolecule la diferite specii animale. Unele diferențe cantitative se constată în funcție de specie, iar altele în funcție de tipul de țesut. De exemplu, conținutul în protide este mai mare în mușchi, ficat și sînge decît în creier; lipidele predomină în creier, glucidele în ficat, iar sărurile minerale în țesutul osos. În tabelul 1—4 se prezintă cu titlu informativ distribuția cantitativă a unor biomolecule în diferite țesuturi.

Tabelul 1—4

Distribuția cantitativă a principalelor componente organice și anorganice în diferite țesuturi (valori procentuale medii)

Țesut	Protide %	Lipide %	Glucide %	Apă %	Săruri minerale %
Mușchi	22	5	0,6	72	1,0
Ficat	22	3	2	71	1,4
Creier	10	14	0,1	73	1,3
Piele	25	7	Prezente	67	0,6
Os	19	Prezente	Prezente	26	28,0
Sînge	18	1	0,1	79	0,8

1.3.2.2. IERARHIA ORGANIZĂRII MOLECULARE

Deși materia vie prezintă grade diferite de complexitate structurală și funcțională, există totuși o schemă generală unică sau un plan unic de organizare biochimică și biologică. Ca rezultat al procesului evolutiv, această schemă reflectă creșterea ordinului de complexitate organizațională în următoarea

Scanned with OKEN Scanner

ierarhie: atomi → molecule simple → macromolecule → complexe supramoleculare → celule → indivizi → populaţii → specii → ecosisteme.

În funcţie de gradul lor de complexitate structurală, biomoleculele pot fi ierarhizate astfel:

— *Precursori chimici* sau molecule relativ simple cu masă moleculară mică; aceştia, prin procese biochimice de biosinteză sînt convertiţi în biomolecule care prezintă diferite trepte de complexitate sau niveluri de organizare moleculară;

— *Metaboliţi intermediari* care rezultă din diferite procese metabolice; reprezintă biomolecule de talie mică, cu masă moleculară cuprinsă între 50—150;

— *Componente moleculare de bază* (monocleotide, aminoacizi, oze, acizi graşi) pentru biosinteza macromoleculelor; reprezintă biomolecule cu masă moleculară intermediară (pînă la cîteva sute);

— *Biomacromolecule*, reprezentînd molecule gigant cu structură complexă şi cu masă moleculară cuprinsă între 10^3—10^9 (proteine, acizi nucleici, poliglucide, complexe lipidice etc.); acestea rezultă prin policondensarea unui număr mare de componente cu structuri simple identice sau diferite;

— *Complexe sau ansambluri supramoleculare* (complexe enzimatice, nucleoproteide, lipoproteide, ribozomi, sisteme contractile etc.) respectiv particule cu mase moleculare cuprinse între 10^6—10^9, provenind din asocierea macromoleculelor.

Spre deosebire de macromolecule care se formează pe bază de legături covalente, în complexele supramoleculare componentele macromoleculare constitutive sînt asamblate prin forţe slabe necovalente de tipul interacţiuni ionice, interacţiuni hidrofobe, legături de hidrogen, forţe van der Waals. Un nivel superior de organizare moleculară şi macromoleculară a celulei îl reprezintă formaţiunile infracelulare (nucleu, mitocondrii, microzomi, lizozomi etc.) care rezultă din asamblarea complexelor supramoleculare.

1.3.2.3. NATURA LEGĂTURILOR CHIMICE ÎN BIOMOLECULE

Biomoleculele reprezintă entităţi chimice caracterizate printr-o structură şi funcţie bine definite. Structura chimică este rezultanta naturii şi interacţiunii mutuale a atomilor componenţi, a distribuţiei şi aranjamentului lor, ceea ce conferă moleculei respective o anumită configuraţie şi proprietăţi caracteristice.

Funcţionarea coordonată a sistemelor biochimice implică existenţa unor tipuri variate de legături chimice şi interacţiuni care se stabilesc intramolecular între atomii componenţi ai biomoleculelor, precum şi intermolecular între diferite biomolecule. Legătura chimică exprimă forţa care leagă atomii sau grupările de atomi într-o moleculă.

Legăturile chimice şi interacţiunile care se realizează la nivelul biomoleculelor sînt următoarele:

— *Legătura covalentă*. Rezultă prin punerea în comun a unei perechi de electroni periferici, cîte unul din fiecare atom care participă la formarea moleculei, realizîndu-se astfel o configuraţie electronică stabilă (dublet sau octet). Perechea de electroni aparţine în mod egal celor doi atomi între care se stabileşte această legătură, astfel încît nu există diferenţă între polaritatea lor. Definită în termeni cuantici, legătura covalentă se constituie prin aco-

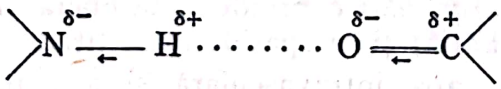
Scanned with OKEN Scanner

perirea *orbitalilor atomici** care conține fiecare un electron celibatar. O legătură covalentă se caracterizează prin: geometrie (orientare) spațială și lungime fixă, rotație liberă în jurul legăturii (σ), rigiditate a legăturii (π), delocalizare și mobilitate a electronilor π. Legătura covalentă, reprezentată printr-o linie plină între atomi, este cea mai puternică și stabilă legătură chimică; ea nu este ionizabilă.

— *Legătura coordinativă*. Este o variantă a legăturii covalente, ce se formează prin cedarea unei perechi de electroni de către un atom (donor) unui alt atom care acceptă cei doi electroni (acceptor). Legătura coordinativă se reprezintă printr-o săgeată îndreptată de la donator (D) la acceptor (A):$D \rightarrow$ A. Ca exemple de donori de electroni sînt atomii N, O, P.

— *Legătura electrovalentă* (ionică). Se realizează prin forțe de atracție electrostatică ce se exercită între ioni cu sarcini electrice opuse — anioni și cationi (orbitalii ionilor nu se acopăr ca în cazul legăturii covalente). În legătura ionică, configurația electronică stabilă a moleculei se realizează prin cîștig sau pierdere de electroni de către atomii care participă la formarea moleculei respective. Legătura electrovalentă este ionizabilă.

— *Legătura de hidrogen*. Este o legătură slabă de tip electrostatic care se stabilește între un atom de H (ce prezintă un deficit de electroni) legat covalent de un atom electronegativ (O, N) și un alt atom care posedă o densitate electronică mare. Acest tip de interacțiune denumită legătură de hidrogen se reprezintă printr-o linie punctată: $A^{\delta-}—H^{\delta+}\ldots B^{\delta-}$. Legăturile de hidrogen se pot stabili intramolecular sau intermolecular și au rol în menținerea configurației spațiale a unor molecule. În biomolecule, legăturile de hidrogen frecvent întîlnite sînt cele care se formează între un atom de H legat covalent de atomul de O (O—H) sau de atomul N (N—H) și un atom cu densitatea electronică mare (O și N). Existența legăturilor de hidrogen se semnalează în cadrul sistemelor în care apar dipoli. De exemplu, macromolecule de importanță biochimică fundamentală ca protidele și acizii nucleici sînt stabilizate prin legături de hidrogen între dipoli de următorul tip:



Astfel, în această interacțiune, un dipol conține un atom de H cu o sarcină parțial pozitivă, iar alt dipol conține un atom de O cu o sarcină parțial negativă.

— *Forțe van der Waals*. Sînt forțe slabe care rezultă din atracția electrostatică a unei molecule sau a unui grup de atomi de către electronii unei alte molecule sau ai unui alt grup de atomi; în acest fel, întreaga moleculă prezintă un moment electric dipolar, iar forța de atracție stabilită prin asemenea dipoli se manifestă numai cînd moleculele sînt foarte apropiate una de alta. Forțele van der Waals sînt mai slabe decît legăturile de hidrogen și dețin un rol important în menținerea configurației biomacromoleculelor în care diferiți atomi ai unei molecule sînt legați de anumiți atomi ai altei molecule.

— *Interacțiuni hidrofobe*. Acestea se manifestă între molecule sau grupe de atomi cu caracter apolar (neionizabil) existente în mediu apos. Interacțiunile hidrofobe nu reprezintă legături propriu-zise deoarece, în stabilirea lor, nu sînt implicați atomi sau grupe de atomi care interacționează. Forțele

---

* *Orbitalul atomic* — este o funcție de undă care caracterizează comportarea unui electron ce se mișcă în cîmpul electric exercitat de nucleul unui atom și care poate indica locul în care probabilitatea de existență a electronului este maximă.

Scanned with OKEN Scanner

care caracterizează interacțiunile hidrofobe sînt cu atît mai mari cu cît cantitatea de apă exclusă dintre moleculele apolare (care au tendința de a se agrega în mediu apos) este mai mare. Interacțiunile hidrofobe intervin în stabilitatea structurii proteinelor globulare, precum și în organizarea structurală a biomembranelor.

1.4. APA CA SOLVENT ȘI MEDIU BIOLOGIC DE REACȚIE

1.4.1. CONȚINUTUL ȘI REPARTIȚIA APEI ÎN ORGANISM

Deși apa este o componentă anorganică totuși, prin proporția sa mare și prin multiplele roluri pe care le exercită, deține o importanță capitală în organizarea și funcționarea materiei vii. Într-adevăr, apa intră în constituția tuturor celulelor și, ca solvent, constituie mediul necesar în care se desfășoară reacțiile biochimice.

Apa este cel mai abundent component celular, reprezentînd — în medie — 60% din masa organismului animal (v. tab. 1—3). Unele țesuturi sau lichide biologice conțin cantități apreciabile de apă, ca de exemplu: mușchiul, creierul și pielea (72—74%), ficatul și plămînii (~71%), plasma sanguină, limfa, sucul gastric (~95%), laptele (~88%) etc. Conținutul deosebit de ridicat în apă este o caracteristică universală a țesuturilor vii (v. tab. 1—4).

În organism, apa este repartizată în două compartimente: compartimentul intracelular și compartimentul extracelular.

Compartimentul intracelular cuprinde apa de constituție sau „apa legată" care participă la alcătuirea structurii celulare și a mediului celular, la imbibiția sistemelor coloidale și la hidratarea diferiților ioni sau biomolecule componente ale celulei.

Compartimentul extracelular cuprinde „apa liberă" existentă în circulația intravasculară (sînge, limfă) și în spațiile interstițiale (apa lacunară).

Apa intracelulară, apa intravasculară și apa interstițială reprezintă mediul lichid prin care se realizează schimburile permanente de substanțe dintre celule, sînge și interstiții, adică dintre cele două compartimente.

Ca origine, apa din organism este *exogenă*, provenind din alimentație (hrană și adăpare) și *endogenă*, provenind din oxidarea la nivel celular a compușilor conținînd hidrogen (glucide, lipide, protide).

1.4.2. ROLUL APEI ÎN ORGANISM

Datorită caracteristicilor structurale ale moleculei sale, apa reprezintă un component indispensabil al vieții îndeplinind următoarele roluri:

— *structural*, participînd la constituția ansamblului celular, la organizarea morfo-chimică a celulei și la formarea coloizilor celulari;

— *mediu lichid*, care permite realizarea a numeroase reacții biochimice care stau la baza vieții;

— *solvent biologic*, solubilizînd și favorizînd disocierea electrolitică a anumitor substanțe care devin astfel reacționabile;

— *stabilizator* al mediului biologic în care subzistă;

Scanned with OKEN Scanner

— *generator de ioni de* H^+ *şi* OH^- necesari pentru realizarea proceselor de tamponare (menţinerea *p*H-ului în limite constante), de cataliză enzimatică şi de hidroliză;

— *efector direct* al reacţiilor de hidratare, hidroliză, precum şi a unor reacţii de oxidare;

— *mediu de vehiculare* a diferitelor substanţe în organism;

— *termoreglator*, menţinînd în limite constante temperatura organismului prin procese de evaporare cutanată şi de eliminare prin respiraţie.

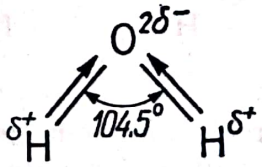
Toate aceste roluri exercitate de către apă şi care sînt esenţiale pentru viaţă se corelează cu reglarea metabolică a bilanţului hidric din organism prin mecanisme complexe care menţin volumul de apă relativ constant.

1.4.3. CARACTERISTICILE STRUCTURALE ALE MOLECULEI DE APĂ

Importanţa capitală a apei pentru orice organism viu este corelată cu o serie de particularităţi structurale ale moleculei sale. Aceste particularităţi conferă moleculei de apă unele proprietăţi unice în raport cu alte lichide, proprietăţi care se reflectă în rolurile multiple pe care le îndeplineşte apa în organism.

Molecula de apă prezintă un *caracter polar*. Polarizarea moleculei de apă este determinată de faptul că atomul de O, care posedă o electronegativitate pronunţată, tinde să atragă electroni de la cei doi atomi de H; perechile de electroni puşi în comun (legătură covalentă) între atomul de O şi atomii de H (O—H) sînt mai puternic atrase de către nucleul mai mare al atomului de O care conţine 8 protoni decît de către nucleele mult mai mici ai atomilor de H care conţin cîte un singur proton fiecare. Din această cauză, atomul de O dobîndeşte o uşoară sarcină negativă reprezentată prin simbolul δ^-, iar cei doi atomi de H dobîndesc sarcini uşor pozitive reprezentate prin simbolul δ^+.

În consecinţă, electronii celor două legături covalente H—O din molecula apei se distribuie inegal, determinînd o asimetrie electrică. Ca rezultat al acestei polarizări electrice, molecula H_2O devine o *moleculă polară* şi se comportă ca un dipol care poate fi reprezentat astfel:



Din această reprezentare a structurii moleculare a H_2O reiese că electronii legăturilor covalente sînt mai puternic atraşi către atomul de O. Deci, *dipolul* este un sistem molecular care conţine două sarcini electrice de semn contrar însă egale ca mărime şi situate la o distanţă mică una de alta.

Multe din însuşirile deosebite ale moleculei de apă se datoresc caracterului său polar (dipol). Astfel, proprietăţile polare ale apei îi conferă capacitatea de a acţiona ca un excelent *solvent*. Aceasta prezintă o importanţă deosebită, deoarece unele componente biochimice din celule se găsesc sub formă ionizată. Existenţa în soluţie a diferiţilor ioni pozitivi şi negativi dizolvaţi este asigurată de moleculele polare de apă care se orientează în jurul acestor ioni după principiul electrostatic; în acest mod, moleculele de apă slăbesc forţa de atracţie dintre ionii încărcaţi electric diferit şi menţin stabilitatea lor, sub această formă, în mediul apos. Acest fenomen este cunoscut ca *efectul de hidratare* exercitat de către moleculele polare de apă care acţio-

Scanned with OKEN Scanner

nează ca solvent asupra diferitelor substanțe (fig. 1.1.). Rezultă deci că, datorită formării unor straturi de molecule polare de apă în jurul cationilor și anionilor, interacțiunea electrostatică dintre acești ioni va fi anulată și, în consecință, ei vor fi menținuți în stare dizolvată în mediul apos.

Capacitatea unui solvent de a izola din interacțiunile lor mutuale ionii cu sarcini electrice opuse este exprimată prin *constanta dielectrică* (D) a mediului respectiv. Forța de atracție (F) dintre doi ioni încărcați electric pozitiv și negativ (q^+ și q^-) separați printr-o distanță (r) este dată de relația:

$$F = \frac{q^+ \cdot q^-}{Dr^2}$$

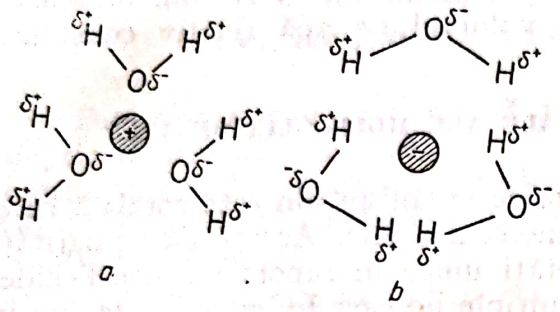
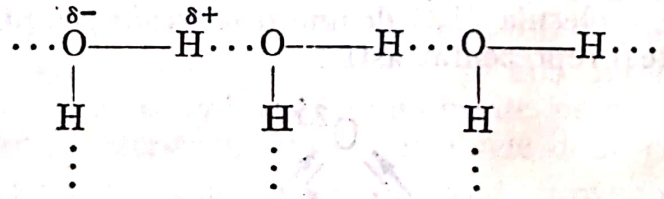


Fig. 1.1. Efectul de hidratare:
a — hidratarea unui ion pozitiv;
b — hidratarea unui ion negativ.

Din această relație rezultă că forța de atracție este redusă în medii cu constante dielectrice mari. Deci, cu cît polaritatea solventului este mai mare, cu atît mai mică este forța de atracție dintre doi ioni încărcați electric diferit. Apa se caracterizează printr-o *constantă dielectrică foarte mare*, atribut care îi conferă proprietatea de a fi un excelent solvent.

Alte proprietăți caracteristice ale apei pot fi explicate pe baza interacțiunilor reciproce dintre moleculele polare de apă. Aceste interacțiuni sînt de tip *dipol—dipol* și stau la baza formării legăturilor de hidrogen. Asemenea legături, care se stabilesc între moleculele polare de apă, sînt determinate de atracția electrostatică pe care atomul de O (încărcat electronegativ) dintr-o moleculă de apă o exercită asupra atomilor de H (încărcați electropozitiv) din molecula de apă învecinată. Acest tip de legătură electrostatică denumită „legătură de hidrogen" și simbolizată printr-o linie punctată se reprezintă astfel:



Prin stabilirea legăturilor de hidrogen, moleculele polare de apă pot forma asociații de tranziție care implică ruperea și reformarea unor asemenea legături. Existența legăturilor de hidrogen care se formează prin interacțiunea moleculelor polare de apă determină o serie de proprietăți particulare ale apei ca: punctul de fierbere ridicat, căldura mare de evaporare, căldura specifică ridicată (numărul de calorii necesar pentru a crește temperatura a 1 g de apă de la $+15°$ la $+16°C$). Aceste proprietăți prezintă o importanță deosebită pentru organism. De exemplu, datorită căldurii sale specifice ridicate, apa menține temperatura constantă a organismului, deoarece cu cît căldura specifică a unei substanțe este mai mare cu atît mai mic este schimbul de temperatură care apare cînd o cantitate de căldură este absorbită de acea substanță; un organism poate absorbi o cantitate semnificativă de căldură fără un schimb mare în biotemperatură. De asemenea, cantitatea mare de căldură necesară evaporării apei este foarte utilă organismului pentru menținerea unei biotemperaturi constante, întrucît o mare cantitate de căldură poate fi disipată prin evaporarea unor mici cantități de apă.

Scanned with OKEN Scanner

În concluzie, proprietățile caracteristice ale apei care derivă din structura sa moleculară determină ca apa să constituie un *mediu ideal* pentru realizarea a numeroase procese fizico-chimice și biochimice din celule.

1.5. *p*H ȘI SOLUȚII TAMPON

1.5.1. *p*H-ul

Definit într-o accepțiune generală, *p*H-ul reprezintă o mărime prin care se poate caracteriza reacția unei soluții (acidă, alcalină, neutră) și care se exprimă prin anumite valori cuprinse între 0 și 14. *p*H-ul unei soluții este în funcție de disociație și reflectă aciditatea ionică a soluției, respectiv numărul de ioni de hidrogen $[H^+]$ existenți în stare liberă.

Reacțiile biochimice se petrec în condiții compatibile cu viața și datorită menținerii în mediul biologic (celule, sînge, lichid interstițial etc.) a unor valori — în limite strict determinate — ale concentrației ionilor de hidrogen $[H^+]$, respectiv ale valorii *p*H-ului. Rezultă astfel că *p*H-ul mediului intern al organismelor reprezintă o constantă biologică care asigură desfășurarea normală a reacțiilor biochimice ce stau la baza tuturor manifestărilor vitale.

*p*H-ul se definește ca *logaritmul zecimal cu semn negativ al concentrației ionilor de hidrogen* și se exprimă prin relația:

$$\boxed{pH = -\lg [H^+]} \qquad (1)$$

Apa este un dizolvant polar amfiionolitic (amfiprotolitic) deoarece, prin disociere, rezultă ionul de hidrogen (H^+), respectiv ionul de hidroniu (H_3O^+) care conferă funcția acidă, precum și ionul hidroxil (OH^-) care conferă funcția alcalină:

$$H_2O \rightleftharpoons H^+ + OH^-$$

Produsul dintre concentrațiile la echilibru ale ionilor rezultați prin disocierea moleculelor de apă reprezintă produsul ionic al apei (P_{H_2O}): $[H^+]$ $[OH^-] = P_{H_2O}$. Pe baza determinărilor de conductibilitate electrică a apei, s-a calculat valoarea P_{H_2O} care, la temperatura de +22°C, este de $1 \cdot 10^{-14}$. Deci, relația precedentă poate fi exprimată astfel: $[H^+]$ $[OH^-] = P_{H_2O} = 1 \cdot 10^{-14}$ (2).

Deoarece prin disocierea apei pure ionii formați se află în raporturi egale, rezultă că: $[H^+] = [OH^-]$. În aceste condiții, relația (2) devine:

$$[H^+]^2 = [OH^-]^2 = P_{H_2O} = 1 \cdot 10^{-14}$$

Această relație se poate însă exprima sub forma:

$$[H^+] = [OH^-] = \sqrt{P_{H_2O}} = \sqrt{1 \cdot 10^{-14}} = 1 \cdot 10^{-7} \qquad (3)$$

Așadar, în apa pură concentrația ionilor de hidrogen este egală cu cea a ionilor de hidroxil, aceste concentrații avînd valoarea de 10^{-7} ioni-gram H^+ și respectiv de 10^{-7} ioni-gram OH^- într-un litru (la +22°C).

Deoarece, conform definiției: $pH = -\lg [H^+]$, relația (3) devine: $pH = 7 - \lg 1$ și deci $pH = 7$ ($\lg 1 = 0$).

Se consideră valoarea $pH = 7{,}0$ ca reprezentînd o *soluție neutră*, adică o soluție care conține un număr egal de ioni $[H^+]$ și $[OH^-]$. Concentrațiile celor două specii de ioni fiind egale în cazul disocierii apei pure, rezultă că apa este neutră și amfoteră.

Scanned with OKEN Scanner

Prin generalizare, relația (3) devine: $[H^+] = a \cdot 10^{-n}$ și deci:

$$\boxed{pH = n - \lg a}$$

Această relație permite calcularea valorii pH-ului pentru diferite soluții.

Exemple. Pentru soluțiile care au următoarele concentrații în ioni de hidrogen: a) $1 \cdot 10^{-2}$M, b) $4 \cdot 10^{-5}$M și c) $8 \cdot 10^{-10}$M, valorile de pH se calculează astfel:

a) $[H^+] = 1 \cdot 10^{-2}$; $pH = 2 - \lg 1 = 2{,}0 (\lg 1 = 0)$
b) $[H^+] = 4 \cdot 10^{-5}$; $pH = 5 - \lg 4 = 4{,}4 (\lg 4 = 0{,}6)$
c) $[H^+] = 8 \cdot 10^{-10}$; $pH = 10 - \lg 8 = 9{,}1 (\lg 8 = 0{,}9)$

Din relația (2) rezultă că $\lg[H^+] + \lg[OH^-] = \lg 10^{-14}$ și deci:

$$pH + pOH = 14$$

De exemplu, pH-ul unei soluții a cărei concentrație în ioni $[OH^-]$ este $4{,}0 \cdot 10^{-4}$M se calculează astfel:

$$[OH^-] = 4{,}0 \cdot 10^{-4}; \; pOH = 4 - \lg 4 = 3{,}4 (\lg 4 = 0{,}6)$$

$$pH = 14 - pOH = 14 - 3{,}4 = 10{,}6$$

Valorile pH-ului sînt cuprinse între 0—14 și se reprezintă prin următoarele domenii sau intervale de pH:

— soluție cu reacție *acidă*: $pH < 7$; $[H^+] > 1 \cdot 10^{-7} < [OH^-]$
— soluție cu reacție *alcalină*: $pH > 7$; $[H^+] < 1 \cdot 10^{-7} > [OH^-]$
— soluție cu reacție *neutră*: $pH = 7$; $[H^+] = [OH^-]$

1.5.2. SOLUȚII TAMPON

Reacțiile biochimice se petrec în limite riguros menținute ale valorilor de pH, homeostazia organismelor manifestîndu-se și prin constanța acestor valori. Pentru a-și menține echilibrul acidobazic în condiții compatibile cu viața, organismele vii posedă mecanisme de reglare fine și precise care se opun oricăror variații de pH ce ar tinde să modifice acest echilibru. Asemenea mecanisme se realizează prin intervenția unor *sisteme tampon* care au rolul de a menține pH-ul în limitele unor valori optime pentru desfășurarea reacțiilor și proceselor biochimice. Astfel, citoplasma diferitelor celule conținînd dizolvate proteine, substanțe organice și săruri minerale se opune la variații ale pH-ului intracelular prin sistemele tampon pe care le conține (asemenea variații se pot datora diverșilor metaboliți intermediari care se produc și se utilizează în celulă, mulți dintre aceștia avînd — prin ionizare — caracter acid); plasma sanguină conține sisteme tampon eficiente pentru menținerea pH-ului sanguin în limite compatibile cu viața ($pH = 7{,}2 - 7{,}3$); de asemenea, enzimele își exercită acțiunea lor catalitică la valori de pH bine definite.

Soluția tampon se definește ca un amestec în echilibru și în anumite proporții de un *acid slab și baza sa conjugată* (pereche acid-bază conjugată) care, la adăugarea de substanțe cu caracter acid sau alcalin, are proprietatea de a rezista modificărilor de pH, menținînd astfel valoarea pH-ului în limite constante. Soluțiile tampon au o concentrație a ionilor de hidrogen definită și constantă, mențin această concentrație în anumite limite caracteristice și se opun variațiilor bruște ale pH-ului. Procesul prin care se realizează această acțiune este denumit *tamponare*.

Scanned with OKEN Scanner

1.5.2.1. MECANISMUL DE ACȚIUNE AL SOLUȚIILOR TAMPON

Conform teoriei lui Brönsted, un acid se definește ca o substanță care poate să *doneze protoni* (H^+), iar o bază ca o substanță capabilă să *accepte protoni*. Astfel, expresiile generalizate pentru un acid și pentru o bază sînt:

$$\underset{\text{(acid)}}{HA} \rightarrow H^+ + \underset{\text{(bază conjugată)}}{A^-}$$

$$\underset{\text{(bază)}}{A^- + H^+} \rightarrow \underset{\text{(acid conjugat)}}{HA}$$

Deci, HA constituie un acid deoarece poate furniza un proton, iar anionul A^- reprezintă baza conjugată respectivă deoarece poate accepta un proton pentru a forma acidul HA.

Exemple de acizi:

$$HCl \rightarrow H^+ + Cl^-$$

$$CH_3—COOH \rightarrow H^+ + CH_3—COO^-$$

$$NH_4^+ \rightarrow H^+ + NH_3$$

Exemple de baze:

$$Cl^- + H^+ \rightarrow HCl$$

$$CH_3—COO^- + H^+ \rightarrow CH_3—COOH$$

$$NH_3 + H^+ \rightarrow NH_4^+$$

Între pH, constanta de disociere și concentrațiile acidului slab (HA) și ale bazei sale conjugate (A^-) există o relație exprimată prin *ecuația Henderson—Hasselbalch*:

$$pH = pK + \lg \frac{[A^-]}{[HA]} \text{ sau } pH = pK + \lg \frac{[\text{Bază conjugată}]}{[\text{Acid conjugat}]}$$

Constanta de disociere (K) este o exprimare cantitativă a puterii relative a acizilor și a bazelor slabe. De exemplu, conform legii acțiunii maselor, constanta de disociere pentru reacția $HA \rightleftharpoons H^+ + A^-$ este: $K_a = \frac{[H^+][OH^-]}{[HA]}$.

Prin analogie cu pH-ul, pK reprezintă logaritmul cu semn negativ al constantei de disociere: $pK = -\lg K$. În condițiile în care speciile protonate (asociate — acid conjugat) și cele neprotonate (disociate — bază conjugată) ale unui acid slab sînt prezente în concentrații egale, atunci $pK = pH$.

Ecuația Henderson—Hasselbalch permite evaluarea echilibrului protolitic, a sarcinilor moleculelor amfotere (aminoacizi, peptide, proteine) în funcție de pH, calcularea pH-ului, prepararea soluțiilor tampon.

În principiu, pe baza reacției generalizate:

$$\text{Acid} \rightleftharpoons H^+ + \text{Bază conjugată}$$

mecanismul de acțiune al soluțiilor tampon poate fi redat astfel:

— *La adăugare de acid* (H^+), baza conjugată reacționează cu H^+ formînd molecule de acid care este puțin disociat, iar echilibrul se deplasează spre stînga (pH-ul nu se modifică);

— *La adăugare de bază* (OH^-), ionul H^+ al acidului reacționează cu ionul OH^- pentru a forma molecule H_2O puțin disociate, iar echilibrul se deplasează spre dreapta (pH-ul nu se modifică).

Exemplul 1. Se consideră soluția tampon formată din amestecul acid acetic și acetat de sodiu care disociază astfel:

$$CH_3—COOH \rightleftharpoons CH_3—COO^- + H^+$$

$$CH_3—COONa \rightleftharpoons CH_3—COO^- + Na^+$$

Dacă la această soluție tampon se adaugă un acid oarecare (de exemplu, HCl), ionii H^+ puși în libertate prin disocierea acestui acid vor reacționa imediat cu anionii CH_3COO^- formînd molecule nedisociate de acid acetic (acid slab), conform reacției:

$$H^+ + CH_3—COO^- \rightarrow CH_3—COOH.$$

În acest mod, se restabilește echilibrul, iar $[H^+]$ rămîne nemodificată.

Prin analogie, dacă se adaugă o bază (de exemplu, NaOH), ionii OH^- rezultați prin disocierea bazei vor reacționa imediat cu rezerva de molecule de acid acetic existentă în soluție. Acidul acetic disponibil va disocia pentru a furniza protoni suplimentari care reacționează cu ionii OH^-. Vor rezulta astfel molecule de apă (puțin disociate) și sarea respectivă. Prin această reacție, se restabilește echilibrul inițial și deci valoarea $[H^+]$, iar *p*H-ul nu se modifică.

Deci,

$$\begin{array}{ccccc} CH_3—COOH & \rightleftharpoons & CH_3—COO^- & + & H^+ \\ & & \downarrow Na^+ & & \downarrow OH^- \\ & & CH_3—COONa & & H_2O \end{array}$$

Exemplul 2. Se consideră sistemul tampon fosfați reprezentat prin reacția: $H_2PO_4^- \rightleftharpoons HPO_4^{2-} + H^+$

— *La adăugare de acid* (H^+), ionii HPO_4^{2-} reacționează cu H^+ pentru a forma un acid mai slab ($H_2PO_4^-$), iar echilibrul se deplasează spre stînga (*p*H rămîne astfel constant).

— *La adăugare de bază* (OH^-), ionii $H_2PO_4^-$ reacționează cu OH^- pentru a forma H_2O, iar echilibrul se deplasează spre dreapta (*p*H-ul rămîne astfel constant).

Exemplul 3. Fosfații constituie unul din sistemele tampon ale sîngelui. Efectul unui acid (HA) mai puternic decît fosfatul monobazic BH_2PO_4 (B=o bază), acid care poate apărea în sînge și care tinde să modifice *p*H-ul, va fi anihilat deoarece fosfatul bibazic B_2HPO_4 din sînge va reacționa cu acidul (HA); se va forma astfel o sare neutră (BA) și fosfat monobazic (BH_2PO_4), produși de reacție care nu vor permite modificarea valorii *p*H-ului:

$$B_2HPO_4 + HA \rightarrow BH_2PO_4 + BA$$

În mod analog, acțiunea unei baze (BOH) va fi practic anulată, deoarece aceasta va reacționa cu fosfatul monobazic (BH_2PO_4) existent în sînge, formînd H_2O și fosfat bibazic; datorită acestui mecanism, valoarea *p*H-ului se va menține în limite fiziologice:

$$BH_2PO_4 + BOH \rightarrow B_2HPO_4 + H_2O$$

În concluzie, soluțiile tampon au proprietatea de a menține practic constantă concentrația ionilor de hidrogen și deci valoarea *p*H-ului cînd se adaugă (sau se formează) cantități mici de acid sau de bază. Aceste soluții

Scanned with OKEN Scanner

posedă deci o „rezervă" de aciditate sau de alcalinitate, reacționînd amfoter; de aceea, amestecurile care compun soluțiile sau sistemele tampon poartă denumirea de *„amfoliți"*.

Ca exemple de sisteme tampon existente în organismul animal se menționează: sistemul *bicarbonat—acid carbonic* ($NaHCO_3/H_2CO_3$ și respectiv $KHCO_3/H_2CO_3$), sistemul *fosfat bibazic — fosfat monobazic* (Na_2HPO_4/NaH_2PO_4 și respectiv K_2HPO_4/KH_2PO_4), sistemul *hemoglobinat alcalin — hemoglobină* (KHb/HHb), sistemul *oxihemoglobinat alcalin — oxihemoglobină* ($KHbO_2$/ $HHbO_2$), sistemul *proteinat alcalin — proteină* (proteinat Na/proteină H).

Eficiența sau capacitatea de tamponare a unei soluții tampon este determinată de doi factori: *concentrația molară* a componenților tamponului (care este direct proporțională cu capacitatea de tamponare) și *raportul* dintre concentrația bazei conjugate și a acidului slab (forma protonată).

1.6. TESTE DE VERIFICARE

1. Să se argumenteze selectarea atomului de carbon ca bioelement de bază pentru organizarea moleculară a materiei vii.
2. Să se elaboreze o schemă de ierarhizare a biomoleculelor în funcție de:
   a) gradul de complexitate structurală
   b) rolul pe care-l exercită în organismul animal.
3. Legătura de hidrogen este:
   — de tip electrostatic?
   — de tip ionic (electrovalent)?
   — de tip dipol—dipol?

   Să se indice, să se argumenteze și să se exemplifice soluția corespunzătoare.
4. Interacțiunile hidrofobe $\frac{\text{sînt}}{\text{nu sînt}}$ legături chimice propriu-zise? Să se indice soluția corectă și să se motiveze opțiunea respectivă.
5. Proprietatea de solvent și mediu biologic de reacție al apei se datorește:
   — legăturilor de hidrogen? — interacțiunilor dipol—dipol?
   — efectului de hidratare? — caracterului polar?

   Să se precizeze și să se argumenteze soluția (soluțiile) corespunzătoare.
6. Acidul clorhidric disociază complet în soluții apoase diluate. Să se precizeze care din următoarele soluții de HCl: 0,1N; 0,01N; 0,02N; 0,05N
   — este cea mai acidă? — are cel mai mic *p*H?
   — este cea mai puțin acidă? — are cel mai mare *p*H?
7. Să se calculeze *p*H-ul următoarelor soluții: a) $CH_3—COOH$ 0,01M, b) $CH_3—COOH$ $3 \cdot 10^{-4}$M, c) NaOH 0,02M.
8. Concentrația unei soluții de HCl este de 0,001N. Să se indice:
   a) concentrația $[H^+]$
   b) *p*H-ul soluției
   c) *p*OH-ul soluției.
9. Pentru o anumită soluție, valoarea *p*OH = 4,0. Să se stabilească valoarea *p*H-ului pentru soluția respectivă.
10. Se dă o soluție tampon constituită din acid acetic și acetat de sodiu.

Scanned with OKEN Scanner

Să se precizeze:

a) componentele acestui sistem tampon

b) mecanismul de acțiune prin care această soluție tampon reglează variațiile de pH la adăugare de acid și respectiv de bază.

11. Să se calculeze pH-ul soluției tampon constituită din CH_3—COOH 0,1M și CH_3—COONa 0,1M, cunoscînd că, constanta de disociere K_a pentru acidul acetic $= 1{,}8 \cdot 10^{-5}$ moli/litru și deci $pK_a = -\lg(1{,}8 \cdot 10^{-5}) = 4{,}744$.

12. 500 ml dintr-o soluție CH_3—COOH 0,1N se amestecă cu 500 ml dintr-o soluție CH_3—COONa 0,1N. Cunoscînd că pentru CH_3—COOH $pK_a = 4{,}744$, să se calculeze pH-ul acestei soluții tampon.

13. Să se prepare 1 litru soluție tampon fosfați 0,5M de pH $= 7{,}5$, utilizînd ecuația Henderson—Hasselbalch și cunoscînd că pentru sistemul acid — bază conjugată $H_2PO_4^-$: HPO_4^{2-} valoarea $pK_a = 7{,}21$.

Scanned with OKEN Scanner

2

GLUCIDE

2.1. CONSIDERAȚII GENERALE

Glucidele sînt substanțe naturale, universal răspîndite în organismele vii atît în cele animale, cît și în cele vegetale; ele alcătuiesc cea mai mare parte a materiei organice de pe planeta noastră. Ele sînt substanțe de o deosebită importanță nu numai pentru organismele vii, ci și pentru industrie.

Glucidele se află și predomină în regnul vegetal. În plante ele se află pînă la 85—90%, în timp ce în organismele animale doar în cantități relativ mici (1—5%). Glucidele constituie componentele principale ale hranei omului și ale multor animale, dar nu pot fi sintetizate de animale din CO_2 și H_2O, ci numai de către plante prin procesul de fotosinteză.

Dintre diferitele substanțe nutritive (glucide, protide, lipide) pe care le utilizează organismele animale, glucidele furnizează cantitatea cea mai mare de energie, pînă la 50—70% din energia totală. De aici rezultă faptul că în regnul animal, de la organismele inferioare pînă la cele superioare, glucidele joacă prin excelență un rol energetic, în timp ce pentru regnul vegetal ele îndeplinesc un rol plastic.

Pe lîngă termenul de glucide, utilizat în terminologia internațională actuală, care își găsește explicația în faptul că în majoritatea lor sînt substanțe cu gust dulce (de la gr. *glichis* = dulce), ele mai poartă și denumirea de zaharide sau zaharuri, atribuită din aceleași considerente (de la gr. *sakkharom* = substanță dulce). Dar aceste denumiri nu corespund pe deplin, întrucît gustul dulce este dat și de numeroase substanțe, ca zaharina, glicerolul etc., care nu sînt glucide, iar multe glucide nu au gust dulce (de exemplu, celuloza, amidonul etc.). Acestei clase de substanțe i-a fost atribuită și denumirea de hidrați de carbon, deoarece majoritatea reprezentanților corespund formulei generale $C_n(H_2O)_m$, în care raportul dintre hidrogen și oxigen este de 2 : 1, ca în cazul apei.

Glucoza : $C_6H_{12}O_6$ sau $C_6(H_2O)_6$; Zaharoza : $C_{12}H_{22}O_{11}$ sau $C_{12}(H_2O)_{11}$.

Denumirea de hidrat de carbon este improprie, întrucît hidrogenul și oxigenul nu sînt legați sub formă de H_2O de atomul de carbon și deci nu sînt hidrați. Unele din glucide nici nu corespund formulei generale (cum este deoxiriboza: $C_5H_{10}O_4$), iar alte substanțe, deși corespund formulei generale nu sînt glucide, de exemplu acidul lactic: $C_3(H_2O)_3$.

2.2. CONSTITUȚIE

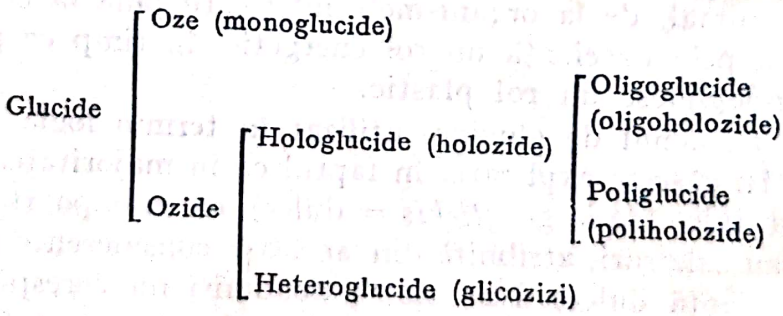
Glucidele sînt substanțe ternare formate din C, H și O. Se cunosc însă derivați care mai conțin pe lîngă aceste elemente de bază și N sau N și S.

Din punct de vedere chimic, glucidele sînt compuși ce conțin în molecula lor o grupare carbonil (aldehidică sau cetonică) și mai multe grupări hidroxil, adică sînt polihidroxi-aldehide sau polihidroxi-cetone. Glucidele care conțin în molecula lor gruparea aldehidică se numesc *aldoze*, iar cele cu grupare cetonică se numesc *cetoze*. Glucidele complexe (poliglucidele) sînt de fapt compuși policondensați, formați din unirea monoglucidelor prin eliminare de apă.

2.3. CLASIFICARE

După comportarea lor la hidroliză, glucidele se divid în două clase: *oze* și *oxide*. Ozidele sînt acele glucide care hidrolizează, dînd naștere la oze, componentele din care sînt formate. Unele ozide pun în libertate prin hidroliză numai glucide, ele se numesc hologlucide sau holozide (de la gr. *holos* = același), iar altele, pe lîngă glucide, și alți compuși alcoolici neglucidici, ele purtînd denumirea de heteroglucide sau heterozide (de la *heteros* = diferit). În funcție de numărul resturilor monoglucidelor din molecula lor, hologlucidele se împart în: oligoglucide (oligoholozide) și poliglucide (poliholozide).

Schema generală de clasificare a glucidelor poate fi reprezentată astfel:



Ozele, care mai poartă și denumirea de monoglucide (glucide simple), conțin în molecula lor un număr mic de atomi de carbon (mai importante sînt cele cu 3 pînă la 7 atomi de carbon).

Ozidele sau glucidele complexe rezultă prin condensarea și eliminarea de apă din mai multe molecule de glucide simple. Printre heteroglucide sînt încadrate glucidele în a căror constituție chimică intră componente atît de natură glucidică, cît și de altă natură, îndeosebi steroidică.

Scanned with OKEN Scanner

Proporţia glucidelor în organismele animale este cuprinsă între 1,2 şi 1,8, cu următoarea repartiţie pe specii: 1,2 la suine; 1,6 la păsări; 1,6 la ovine; 1,7 la bovine; 1,8 la cabaline.

2.4. ROLUL GLUCIDELOR ÎN ORGANISMELE ANIMALE

În lumea animală, glucidele îndeplinesc un rol energetic, în sensul că ele furnizează în mare parte (pînă la 70%) din energia totală produsă în organism. Ele constituie principalul furnizor de atomi de carbon, sursă deosebit de necesară pentru organismele animale în biosinteza proteinelor, lipidelor etc. De asemenea, glucidele intră în structura unor componente deosebit de importante, ca: lipide (glicolipide), mucopoliglucide, glicoproteide etc.

2.5. OZE (MONOGLUCIDE)

În funcţie de lungimea catenei, respectiv după numărul atomilor de carbon din moleculă, monoglucidele se împart în: trioze, tetroze, pentoze, hexoze etc. (denumirea lor făcîndu-se prin adăugarea sufixului *ză* la rădăcina monoglucidelor). Fiecare din acestea pot fi aldoze sau cetoze, după natura grupării carbonil prezentă în molecula lor. Exemple de monoglucide sînt:

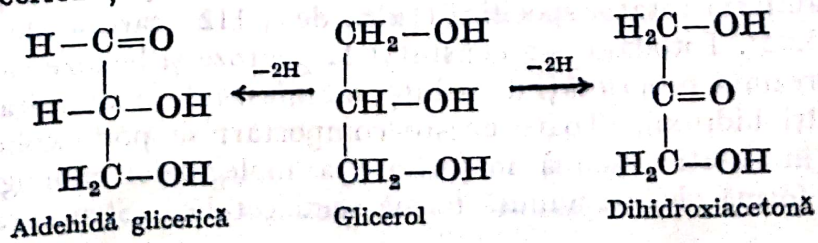
— Trioze [aldotrioze: aldehidă glicerică *D* şi *L*; cetotrioză: dihidroxiacetonă]

— Tetroze [aldotetroze; cetotetroze] sînt de mică importanţă pentru animale

— Pentoze [aldopentoze: arabinoză, riboză, xiloză; cetopentoze: ribuloză, xiluloză]

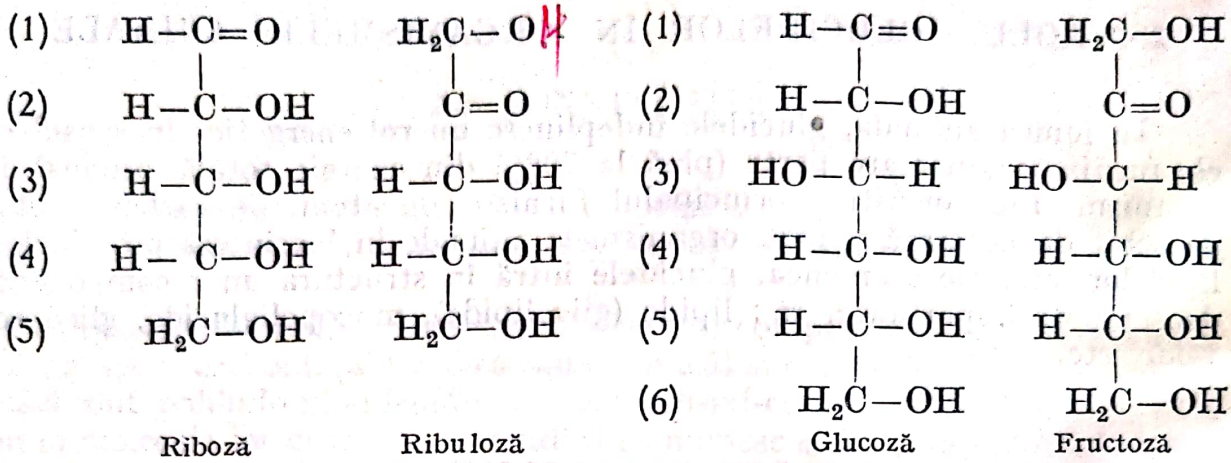
— Hexoze [aldohexoze: glucoză, galactoză, manoză; cetohexoze: fructoză, sorboză]

Datorită faptului că monoglucidele conţin o grupare carbonil şi mai multe grupări hidroxil, rezultă că ele pot fi considerate produşi de oxidare ai poliolilor aciclici, în care o grupă de alcool primar este oxidată în aldehidă sau, una de alcool secundar, în cetonă. Aşa, de exemplu, se poate considera că de la glicerol derivă cele mai simple monoglucide, triozele, şi anume: aldehida glicerică şi dihidroxiacetona:



Aldehidă glicerică — Glicerol — Dihidroxiacetonă

Uneori pentru simplificare, formula monoglucidelor poate fi reprezentată printr-o linie care redă scheletul moleculei, pe care sînt grefate grupările funcționale. Astfel, structura unor pentoze și hexoze poate fi redată în felul următor:



In cazul aldozelor, numerotarea atomilor de carbon se face începînd de la atomul de carbon aldehidic, iar în cazul cetozelor, de la capătul catenei cel mai apropiat de gruparea cetonică.

2.5.1. STRUCTURA ȘI IZOMERIA MONOGLUCIDELOR

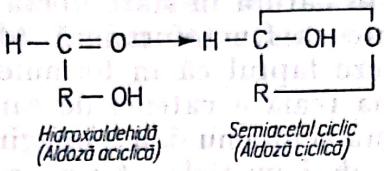
Cele mai interesante probleme privind proprietățile glucidelor, în general, sînt legate de structura monoglucidelor, îndeosebi de structura ciclică sau forme semiacetalice sau anomerie.

a) *Forme semiacetalice.* Mai sus s-au prezentat formulele de structură ale unor monoglucide, din care se desprinde faptul că ele sînt compuși cu catenă neramificată (cu foarte puține excepții). Scrierea formulelor monoglucidelor sub formă liniară poartă denumirea de formulare aciclică sau carbonilică, deoarece scot în evidență prezența grupării carbonil.

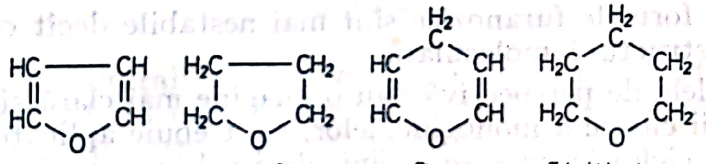
Anumite fapte experimentale legate de structura monoglucidelor au scos la iveală și unele neconcordanțe dintre proprietățile lor fizico-chimice și formularea aciclică. Așa, de exemplu, glucoza, care este o aldohexoză nu dă una din reacțiile sensibile ale aldehidelor, cunoscută sub denumirea de recție Schiff. De asemenea, glucoza nu formează combinație bisulfitică cu $NaHSO_3$. Aceste comportări sînt cauzate de faptul că în soluție apoasă neutră, la aldoze, concentrația formei aldehidice (structură aciclică) este atît de mică (0,0026% în cazul *D*-glucozei), încît grupa carbonil nu poate fi recunoscută cu reactivi specifici aldehidelor. Un alt fapt neașteptat care a fost constatat la glucoză și apoi la alte monoglucide se referă la variația în timp a rotației specifice. Astfel, o soluție apoasă proaspăt preparată de glucoză manifestă rotația specifică ($[\alpha]_D^{20}$) de +112°, care scade apoi treptat pînă la +52,5°. Totodată, s-a constatat la pentoze și hexoze că unul dintre hidroxili prezintă proprietăți deosebite, manifestînd o reactivitate mai mare decît ceilalți hidroxili. Toate aceste comportări se pot explica admițînd faptul că în soluție, marea majoritate a moleculelor monoglucidelor se găsesc sub formă ciclică, numită formă semiacetalică. Structura semiaceta-

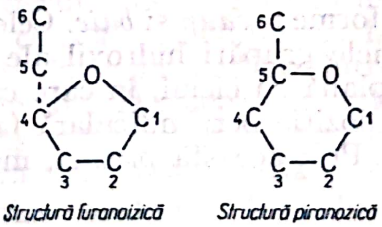
Scanned with OKEN Scanner

lică este rezultatul adiției intramoleculare a unei grupări hidroxilice la gruparea carbonil:

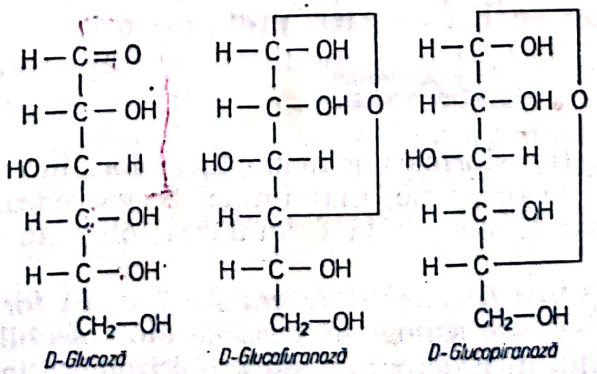


Faptele experimentale dovedesc existența în soluțiile monoglucidelor a unei forme aciclice în echilibru cu formele ciclice. Ciclizarea este determinată de orientarea tetraedrică a valențelor atomilor de C, care cauzează apariția unei catene cu tendință spontană de ciclizare intramoleculară. În structura rezultată în acest mod, gruparea carbonil este mascată, în locul ei apărînd o nouă grupare hidroxil, numită hidroxil semiacetalic sau glicozidic. Această grupare hidroxil posedă proprietăți deosebite de ale celorlalți hidroxili din moleculă. Ciclizarea monoglucidelor îndeosebi a pentozelor și a hexozelor, se realizează în așa fel ca să ia naștere un pentaciclu heteroatomic cu un atom de oxigen (ciclu furanic) sau un hexaciclu cu un atom de oxigen (ciclu piranic), deoarece penta- și hexaciclurile manifestă stabilitatea cea mai mare. Întrucît în asemenea substanțe scheletul îl constituie furanul și piranul, formele corespunzătoare ale monoglucidelor poartă denumirea de structuri furanozice sau piranozice.

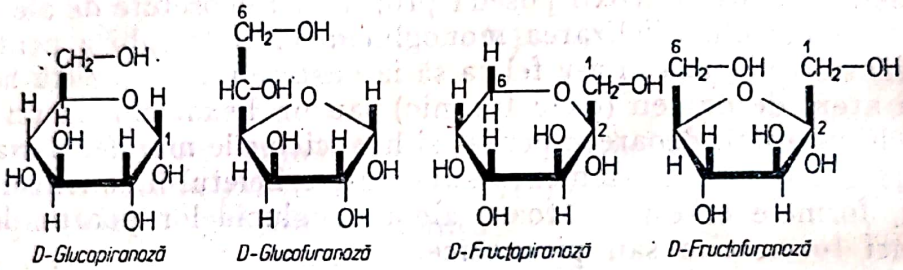




Așa, de exemplu, de la *D*-glucoză formele ciclice (formulele de proiecție) sînt *D*-glucofuranoză și *D*-glucopiranoză:

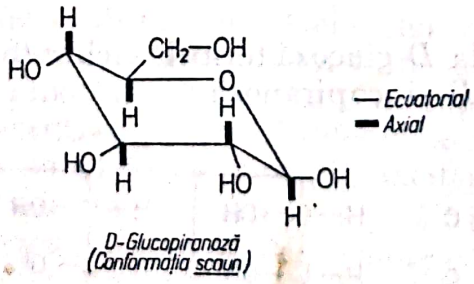


Monoglucidele cele mai importante se găsesc, în formă liberă, cel mai adesea ca piranoze, iar ca furanoze se află în diglucide și acizi nucleici. Așa, de exemplu, fructoza se află în natură în stare liberă sub formă de fructopiranoză, iar în compuși apare ca fructofuranoză (de exemplu în zaharoză). Este necesar să se precizeze faptul că în formulele de proiecție obișnuite nu se ține seama de forma reală a catenei de carbon, întrucît atomii din ciclu se scriu în linie dreaptă și nici nu dau o imagine exactă a poziției hidroxililor. Formulele acestea, deși nu redau forma reală a moleculelor, totuși au avantajul că sînt mai sugestive. Mai apropiate de forma reală a moleculelor sînt formulele de perspectivă, în care ciclul este imaginat ca fiind așezat pe masă și desenat privind oblic asupra lui, cu oxigenul din ciclu înspre înapoi, iar gruparea $-CH_2-OH$ sub formă de catenă laterală în sus. Atomii de carbon din ciclu, de obicei, nu se notează ca atare. Cu ajutorul formulelor de perspectivă formulele ciclice ale glucozei și fructozei pot fi redate astfel :



În general, formele furanozice sînt mai nestabile decît cele piranozice, din motive de structură moleculară.

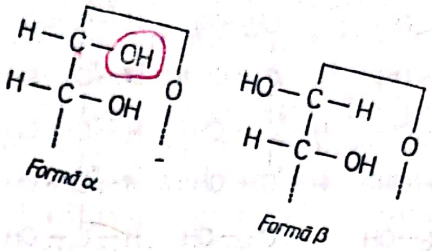
Deși formulele de perspectivă dau o imagine mai clară și mai intuitivă asupra structurii ciclice a monoglucidelor, ele trebuie aplicate ținînd seama de faptul că în ciclurile cu șase atomi, deci cele piranozice, atomii nu se află în același plan, ci sînt orientați în spațiu în așa fel ca să evite deformarea unghiurilor de valență. De aici rezultă faptul că glucidele în formă ciclică se prezintă în două forme : *scaun* și *baie*. Cele mai stabile sînt formele *scaun*. În aceste forme unele grupări hidroxil ale atomilor de carbon pot adopta o poziție aproape plană cu ciclul, în care caz se numesc *ecuatoriali*, iar alte grupări să aibă o poziție perpendiculară față de planul ciclului, în care caz se numesc *axiali*. Prin această prismă, molecula *D*-glucopiranozei se prezintă astfel :



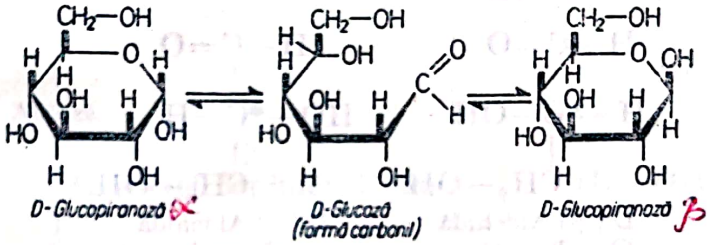
Pentru redarea transformărilor monoglucidelor, în cele ce urmează se vor folosi formulele de proiecție, mai simple. Se va vedea însă că formulele de perspectivă nu pot fi ocolite la formularea oligoglucidelor și a poliglucidelor.

b) *Forme α și β sau fenomenul de mutarotație.* În formulele ciclice ale aldozelor atomul C—1 este asimetric, ceea ce face posibilă existența a doi stereoizomeri în echilibru. Existența acestor doi izomeri, în cazul *D*-glucozei,

se datorește faptului că hidroxilul semiacetalic poate avea orientări spațiale diferite față de planul ciclului, putîndu-se găsi de aceeași parte sau în partea opusă cu hidroxilul de la C—2. Cei doi izomeri dinamici sînt numiți forma α sau *cis* și forma β sau *trans* ale monoglucidelor sau anomeri α și β.



În multe cazuri aceste forme au fost izolate în stare pură. Trecerea din forma α în forma β și invers se face prin intermediul formei carbonil, echilibrul fiind însă deplasat spre cele două forme ciclice.



Deosebirea structurală a celor două forme constă în faptul că la forma α gruparea HO glicozidică este de aceeași parte a planului ciclului piranozic. Constantele fizice ale formei α sînt diferite de cele ale formei β, precum și valoarea unghiului de rotație specifică (forma α din seria *D* fiind mai puternic dextrogiră, respectiv forma α din seria *L* mai puternic levogiră). Trecerea unei monoglucide din forma α în forma β poartă denumirea de mutarotație, fenomen ce constă în modificarea în timp a valorii unghiului de rotație specifică, stabilindu-se un echilibru între cele două forme izomere. Astfel, dacă se dizolvă în apă *D*-glucoză cristalizată (glucoza cristalizată este de forma α) și se măsoară imediat unghiul rotației specifice se găsește $[\alpha]_D^{20} = +112°$. După cîtva timp însă, rotația specifică scade pînă la valoarea de +52,5°, unde rămîne constantă. Prin dizolvare în apă a formei β, rotația specifică este de +18,7°, dar și soluția ei arată mutarotație, ajungînd după cîteva ore la valoarea de +52,5°. Soluția cu rotația specifică +52,5° conține ambele forme α și β, în echilibru.

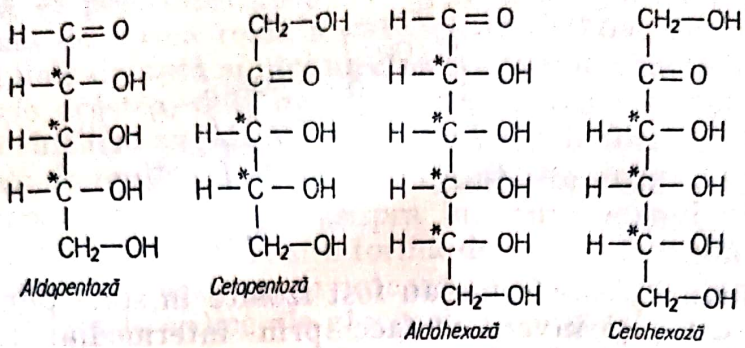
În soluție apoasă există ambele forme ciclice, α și β, atît furanozice cît și piranozice, precum și o cantitate relativ mică de formă aldehidică, iar între cele cinci forme există un echilibru, care poate fi deplasat înspre una din forme, în funcție de condițiile de mediu. În acest fel se explică reacțiile specifice grupării carbonil sau ale hidroxilului semiacetalic.

c) *Activitate optică.* Monoglucidele prezintă activitate optică întrucît posedă în moleculă atomi de carbon asimetrici. Se pot distinge stereoizomeri dextrogiri (+) și levogiri (—). Numărul stereoizomerilor posibili este de 2^n (n = numărul de atomi de carbon asimetrici), dintre care cîte doi izomeri sînt enantiomorfi. Astfel, aldopentozele posedă trei atomi de carbon asimetrici, cetopentozele doi, aldohexozele patru, iar cetohexozele trei.

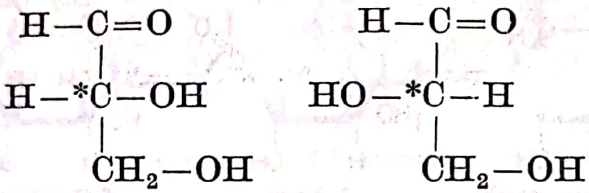
Scanned with OKEN Scanner

Prin trecerea formei carbonil în formă semiacetalică, atomul de carbon al grupării carbonil devine atom de C asimetric.

În determinarea structurii monoglucidelor au o deosebită importanță noțiunile de serie *D* și serie *L*. Pentru stabilirea acestora se ia drept criteriu

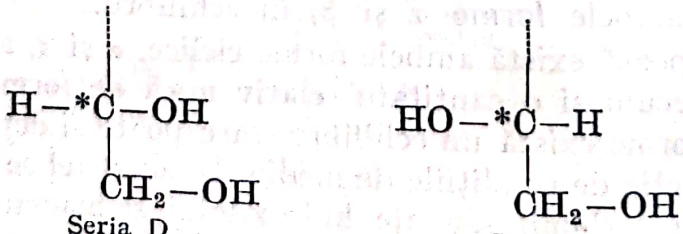


structura aldehidei glicerice. Astfel, aldehida glicerică dispune de un singur atom de carbon asimetric și va avea cele două forme enantiomorfe:



D-(+)-Aldehidă glicerică — L-(−)-Aldehidă glicerică

Forma de proiecție în care HO de la atomul asimetric este scris spre dreapta se notează cu *D*, iar cealaltă formă enantiomorfă cu *L*. Forma *D* a aldehidei glicerice este dextrogiră (+), iar forma *L* este levogiră (−). Toate celelalte monoglucide pot fi considerate ca derivînd de la aldehida glicerică prin atașarea de grupări $H-\overset{|}{\underset{|}{C}}-OH$. Deci configurația *D* și *L* este legată de cea a aldehidei glicerice, și anume: toate monoglucidele care au configurația atomului de carbon asimetric cel mai îndepărtat de gruparea carbonil identică cu atomul de carbon asimetric al *D*-aldehidei glicerice fac parte din seria *D* (deci au HO de la cel mai îndepărtat atom asimetric din partea dreaptă), iar cele care au configurația respectivului C asimetric identică cu cea a atomului de carbon asimetric al *L*-aldehidei glicerice fac parte din seria *L*. De aici rezultă că, în general, configurația seriei *D* și al seriei *L* a oricărei glucide este următoarea:

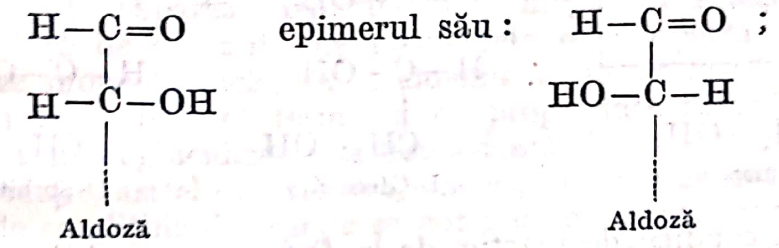


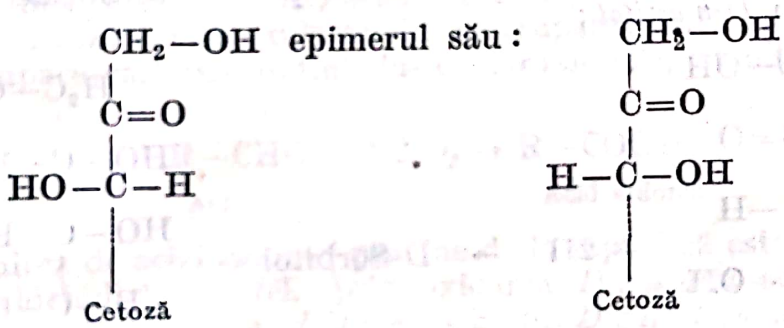
Seria D — Seria L

Seria *D* și seria *L* la pentoze și hexoze nu sînt legate de sensul rotirii planului luminii polarizate, cum este cazul *D*- și *L*-aldehidei glicerice, ci se referă numai la configurația atomului de carbon asimetric cel mai îndepărtat de gruparea carbonil, indicînd doar apartenența la seria corespunzătoare. Există monoglucide care fac parte din seria *D*, dar rotesc planul luminii polarizate spre stînga, deci sînt levogire și invers,

unele monoglucide din seria *L* rotesc planul luminii polarizate spre dreapta și sînt deci dextrogire. Așa de exemplu, *D*-fructoza este levogiră, iar *L*-fructoza este dextrogiră. În cazul cînd în soluție există amestecuri de părți egale de forme *D* și *L* se numesc forme racemate. În organismele vii, monoglucidele se află sub formă de izomeri optic activi.

d) *Epimerizarea monoglucidelor*. Organismele vii sînt capabile să transforme o monoglucidă în alta, adică să producă interconversii. Aceste transformări constau fie într-o inversare a configurației, fie în trecerea unei aldoze în cetoză, fie chiar în scindarea moleculei unei monoglucide în două molecule de monoglucide. Inversarea configurației unui atom de carbon asimetric în apropierea grupei carbonil dintr-un compus se numește *epimerizare* și poate avea loc atît la aldoze, cît și la cetoze:





Asemenea transformări au loc sub acțiunea enzimelor, ca de exemplu: glucoză → galactoză (v. Metabolism).

2.5.2. PROPRIETĂȚI FIZICE ALE MONOGLUCIDELOR

Principalele monoglucide, adică pentozele și hexozele, sînt substanțe solide, cristalizate, incolore, cu gust dulce, ușor solubile în apă, puțin solubile în alcooli și insolubile în alți solvenți organici (eter etilic, cloroform, diferite hidrocarburi). Soluțiile lor sînt incolore.

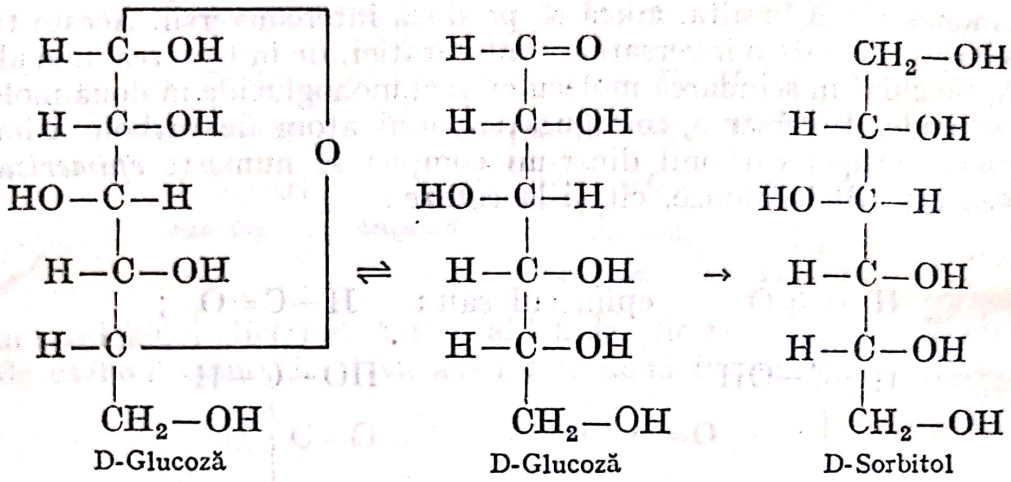
2.5.3. PROPRIETĂȚI CHIMICE ALE MONOGLUCIDELOR

Deoarece monoglucidele conțin în molecula lor grupări carbonil și hidroxil, ele vor prezenta, în general, proprietăți caracteristice acestor grupări funcționale. Întrucît glucidele conțin și HO semiacetalic, vor prezenta și reacții specifice acestei grupări, iar unele din proprietățile caracteristice grupării carbonil nu se vor regăsi la monoglucide. Unii dintre derivații monoglucidelor se află în natură și prezintă o deosebită importanță biochimică.

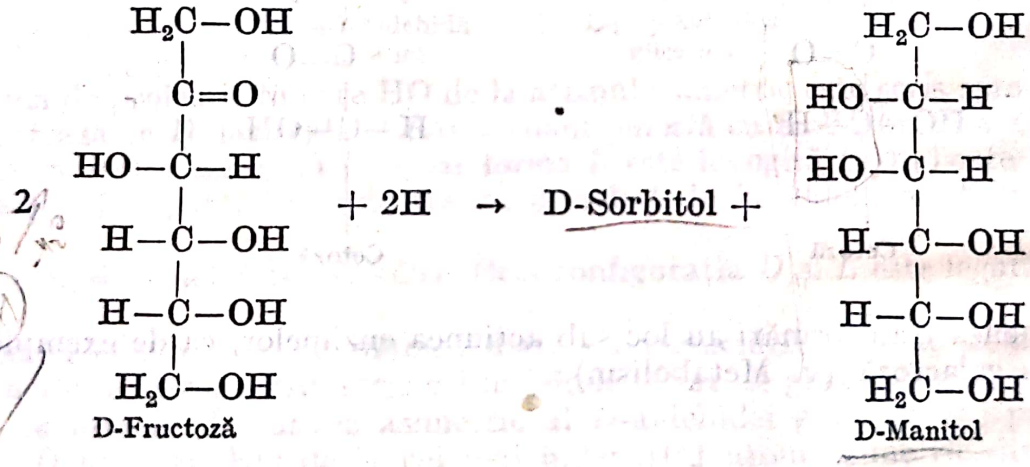
Scanned with OKEN Scanner

Reacții datorite grupării carbonil

Prin hidrogenarea monoglucidelor, aldoze sau cetoze, se obțin polialcooli. În acest fel din tetroze se obțin tetroli, din pentoze, pentoli, din hexoze, hexoli etc. Astfel, prin hidrogenarea *D*-glucozei se obține hexolul numit *D*-sorbitol.

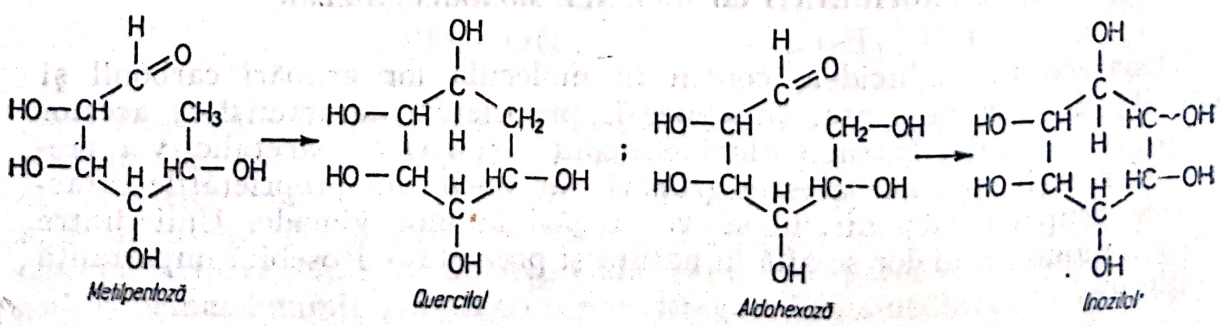


În aceleași condiții de reacție, de la *D-fructoză* se obține un amestec de *D-sorbitol* și *D-manitol*:

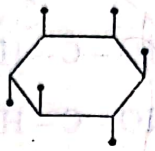


Acești alcooli polihidroxilici conțin atomi de C asimetrici, ca și monoglucidele din care provin, astfel că ei există sub forma mai multor izomeri optici. Unii dintre acești polioli se întîlnesc în natură.

Alături de pentolii și hexolii aciclici, în organismul animal și vegetal se află hexoli ciclici, numiți ciclitoli sau ciclite. Formarea ciclitolilor are loc, de asemenea, din pentoze sau hexoze printr-o reacție de aldolizare intramoleculară. Cei mai importanți ciclitoli sînt quercitolii și inozitolii, rezultați din aldolizarea metilpentozelor, respectiv a aldohexozelor:



De mare importanţă fiziologică este unul dintre inozitoli şi anume mezoinozitolul, care este optic activ întrucît are molecula asimetrică. Acest inozitol este un factor de creştere pentru multe microorganisme şi este inclus în complexul vitaminic B. De asemenea, este un component al lipidelor complexe. De aici reiese faptul că între quercitoli, inozitoli şi glucide (metilpentoze şi hexoze) există o strînsă legătură biogenetică.



Mezoinozitol

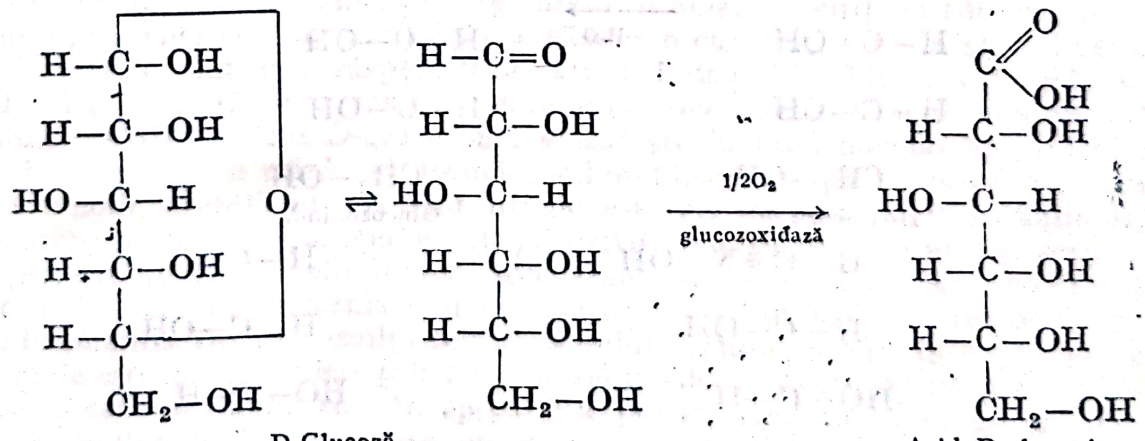
Produşi de oxidare. Monoglucidele se pot oxida la acizi, cu oxidanţi potriviţi, atît la gruparea carbonil, cît şi la gruparea alcoolică primară. În general, faţă de oxidanţi, monoglucidele se comportă în mod diferit.

Deoarece monoglucidele, ca şi aldehidele, se oxidează cu uşurinţă se utilizează în mod frecvent termenul de proprietate reducătoare. Puterea reducătoare a monoglucidelor este dependentă de natura oxidantului şi de mediul de reacţie, astfel că oxidarea, uneori, decurge neunitar şi complicat. În funcţie de condiţiile de reacţie se pot obţine diferiţi produşi de oxidare, principalii fiind: acizi aldonici, acizi zaharici şi acizi uronici.

— *Acizi aldonici.* Prin oxidarea aldozei gruparea aldehidică este transformată în grupare carboxil, obţinîndu-se hidroxi-acizi, numiţi acizi aldonici sau *onici*:

$$\underset{\text{Aldoză}}{R{-}CHO} + 1/2\ O_2 \rightarrow \underset{\text{Acid aldonic}}{R{-}COOH}$$

Denumirea de acizi aldonici provine de la faptul că este oxidată numai gruparea aldehidică. Astfel, prin oxidarea *D-glucozei* se obţine acidul *D-gluconic*, din *D-manoză acid D-manonic*, din *D-galactoză acid D-galactonic* etc. În general, de la hexoze se obţin acizi hexonici.



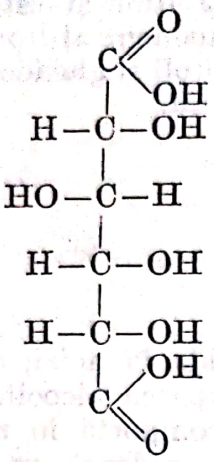
D-Glucoză — Acid D-gluconic

În aceleaşi condiţii, pentozele formează acizi pentonici. Cetozele însă manifestă o rezistenţă chimică.

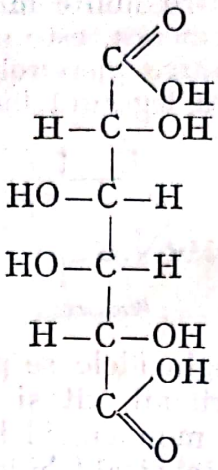
Acizii aldonici prezintă reacţii tipice ale hidroxiacizilor. Dintre săruri, *D-gluconatul* de calciu este utilizat ca medicament.

— *Acizi zaharici.* Oxidarea mai energică a aldozelor, de exemplu cu acid azotic concentrat, duce la acizi dicarboxilici, numiţi acizi zaharici,

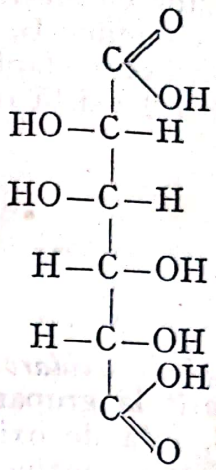
în care cei doi atomi de C terminali ai aldozei (cu gruparea aldehidică și cu gruparea alcoolică primară) sînt transformați în carboxili.



Acid D-glucozaharic



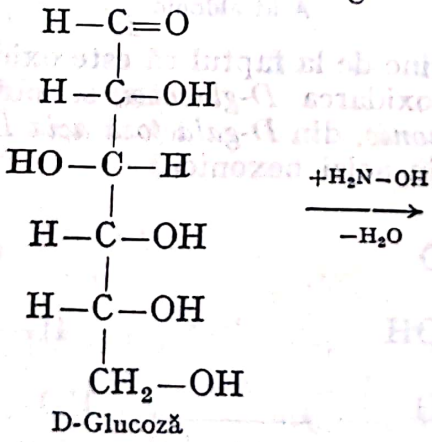
Acid D-galactozaharic



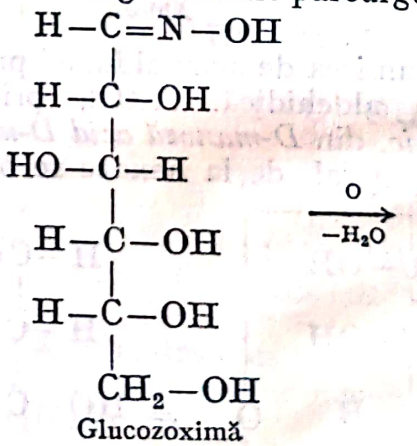
Acid manozaharic

Denumirea acizilor zaharici se face în funcție de glucidele de la care provin. Astfel, acidul zaharic provenit din *D*-glucoză se numește acid *D*-glucozaharic sau numai acid *D*-zaharic, cel provenit din *D*-galactoză este numit acid *D*-galactozaharic sau acid mucic, cel din *D*-manoză este numit acid *D*-manozaharic.

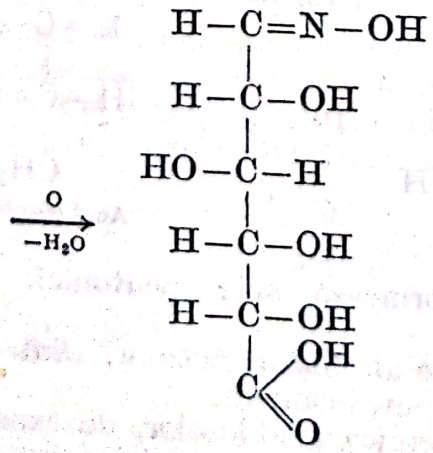
— *Acizi uronici.* Prin oxidarea aldozelor în condiții speciale, care constau în protejarea grupei aldehidice în așa fel ca să se poată oxida numai gruparea alcool primară, se obțin compuși aldohidroxicarboxilici, numiți acizi uronici. Astfel, oxidarea *D*-glucozei la acid glucuronic parcurge etapele :

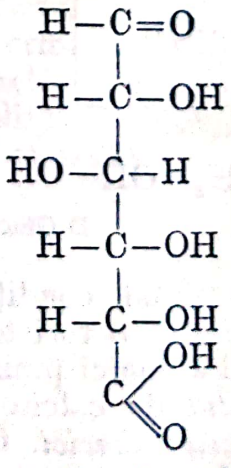


D-Glucoză



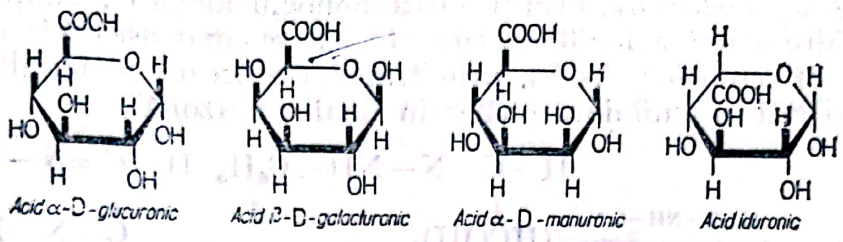
Glucozoximă



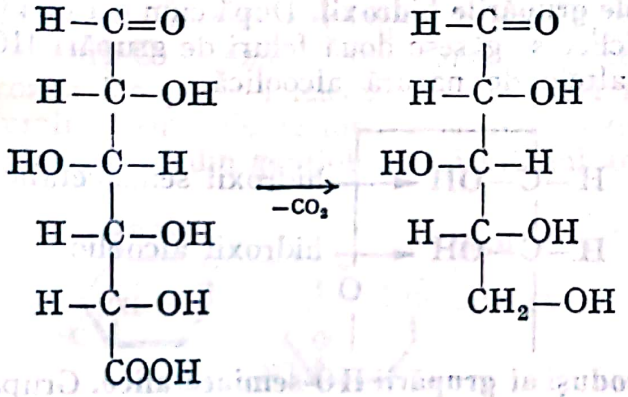


Acid glucuronic (formă aciclică)

Prin faptul că gruparea aldehidică nu este transformată, acizii uronici există în formă semiacetalică. Astfel, structurile ciclice ale principalilor acizi uronici și anume acizii: glucuronic, galactouronic și manuronic sînt:



Din aceste structuri reiese faptul că, acizii uronici prezintă multe din proprietățile aldozelor inițiale. Ei sînt reducători, prezintă mutarotație și pot forma glicozizi. Prezentînd gruparea carboxil pot forma săruri și esteri. Prin decarboxilarea acizilor uronici se obțin monoglucide cu un atom de C mai puțin. Astfel, dintr-un acid hexuronic se obține o pentoză.



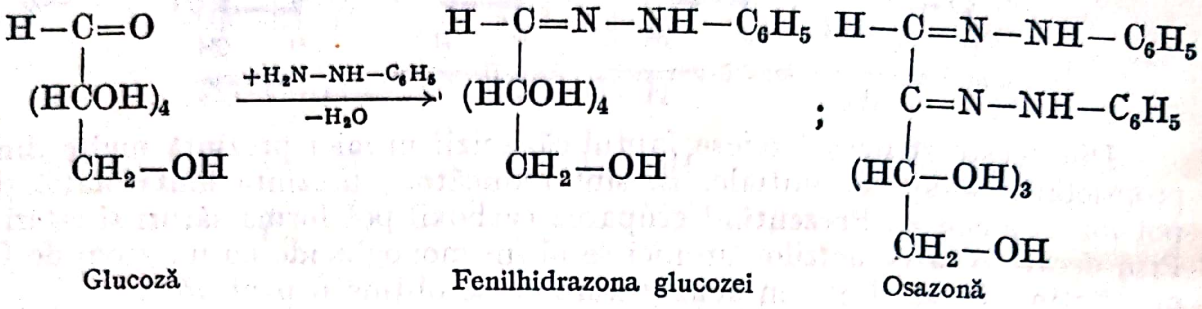
Acid hexuronic — Aldopentoză

De aici rezultă faptul că, originea pentozelor în organism o constituie acizii uronici, fără însă a fi singura lor cale de formare. Cei mai importanți sînt acizii aldouronici, dar se cunosc și acizi cetouronici (de exemplu, acidul gulonic). Deși acizii uronici se găsesc în cantități mici în stare liberă, unii dintre ei sînt mult răspîndiți în natură, îndeosebi sub formă de poliglucide. Ei prezintă și o mare însemnătate biochimică pentru organismul animal. Astfel, acidul *D*-glucuronic se găsește în mod normal în cantități mici în sînge și în urină sub formă combinată, cu compuși hidroxilici, cum sînt fenolii, crezolii etc. Acidul uronic este cel mai cunoscut la animale. Aceste combinații se aseamănă cu glicozizii, sînt solubile în apă și servesc organismului pentru eliminarea unor compuși toxici, cum sînt compușii hidroxilici aromatici formați în decursul metabolismului sau introduși ca medicamente. De aici rezultă faptul că rolul acizilor uronici în organismele animale este de detoxifiere prin fixarea compușilor toxici în compuși netoxici, proces care se desfășoară în ficat. S-a putut constata că la intoxicarea organismului cu benzen, care nu se poate lega de acidul uronic, acesta este mai întîi oxidat la fenol, apoi condensat sub formă glicozidică cu acidul uronic. Acest fapt demonstrează că organismul dispune de posibilitatea de transformare a compușilor dăunători în compuși inofensivi și eliminarea lor. Acidul glucuronic alcătuiește marea parte a poliglucidelor, îndeosebi a mucopoliglucidelor animale și a celor bacteriene. De asemenea se găsește sub formă conjugată. Acidul galacturonic este un constituent principal al acizilor pectici izolați din pectine vegetale. Acidul manuronic

Scanned with OKEN Scanner

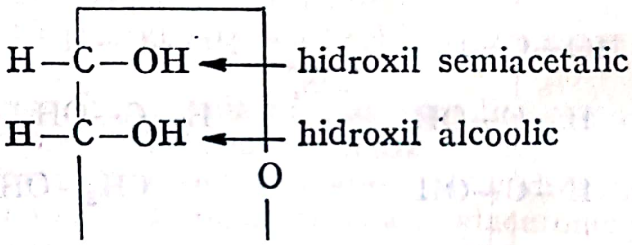
se află sub formă de poliozide în acidul alginic din alge. Acidul iduronic ia parte la structura poliglucidelor animale cum este acidul dermatan-sulfuric.

Produși de condensare. Prin tratarea monoglucidelor cu compuși azotați, cum sînt hidroxilamina, fenilhidrazina etc., ele se condensează în mod analog aldehidelor și cetonelor. Astfel, prin tratarea glucozei cu fenilhidrazină ia naștere mai întîi o fenilhidrazonă și în final o osazonă.

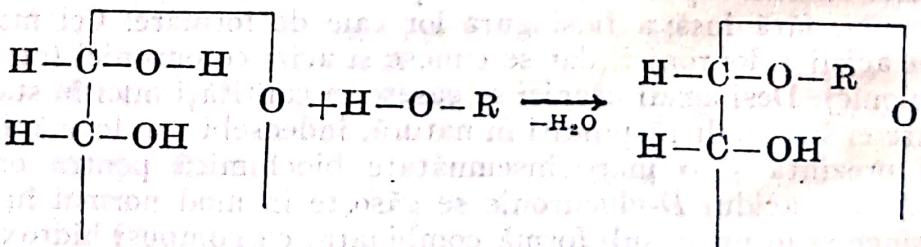


Glucoză — Fenilhidrazona glucozei — Osazonă

Reacții date de grupările hidroxil. După cum s-a menționat, în molecula monoglucidelor ciclice se găsesc două feluri de grupări HO : una de natură semiacetalică și altele de natură alcoolică.

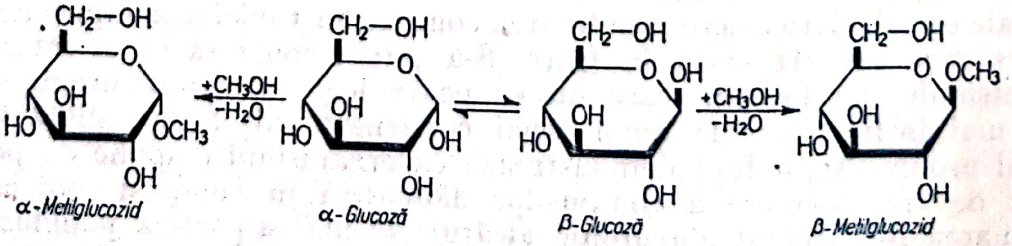


Reacții și produși ai grupării HO-semiacetalice. Gruparea HO semiacetalică este mult mai reactivă decît grupările HO alcoolice, putînd reacționa ușor cu alcooli sau fenoli, prin eliminare de apă și să dea naștere la compuși



Pentoză sau hexoză — *O*-Glicozid

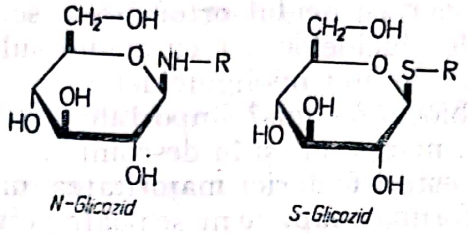
de tip eteric, numiți glicozizi sau heterozide (v. Heterozide). Astfel, prin încălzirea glucozei cu alcool metilic, în prezență de HCl, se formează un amestec de două substanțe și anume : α- și β-*Metilglucozid* :



α-Metilglucozid — α-Glucoză — β-Glucoză — β-Metilglucozid

Termenul de glucozid cuprinde întreaga clasă de compuși în care o glucidă este legată de o altă substanță neglucidică, iar legătura dintre cele două componente este de natură eterică și se numește legătură glicozidică.

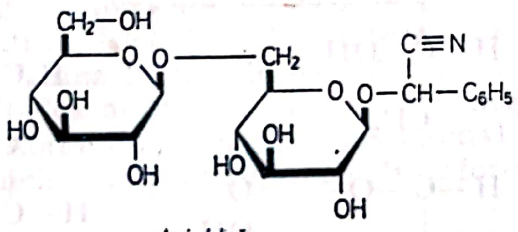
În cazul cînd glicozizii provin de la glucoză se numesc glucozizi, cei de la galactoză galactozizi, cei de la manoză manozizi etc. Dacă în cazul monoglucidelor între formele α și β este echilibru, în cazul glicozizilor corespunzători nu există posibilitatea acestei transformări, întrucît nu poate apărea forma carbonil. Glicozizii hidrolizează ușor în componente, datorită faptului că legătura dintre cele două componente este de natură semiacetalică. Formarea de glicozizi este posibilă și prin reacția dintre un acid al monoglucidei și un compus hidroxil, dar în acest caz sînt numiți „ester-glicozizi".



N-Glicozid *S-Glicozid*

La glicozizi, componenta neglucidică este denumită aglicon. Pe lîngă glicozizii în care legătura dintre cele două componente este realizată prin intermediul oxigenului, numiți O-glicozizi, se mai cunosc N-glicozizi și S-glicozizi.

Dintre N-glicozizi fac parte nucleozidele (v. Acizi nucleici) și mulți alți compuși naturali. Demn de reținut este *N*-glicozidul cianogenetic, numit amigdalină, constituit din gențiobioză și nitrilul acidului mandelic:



Amigdalină

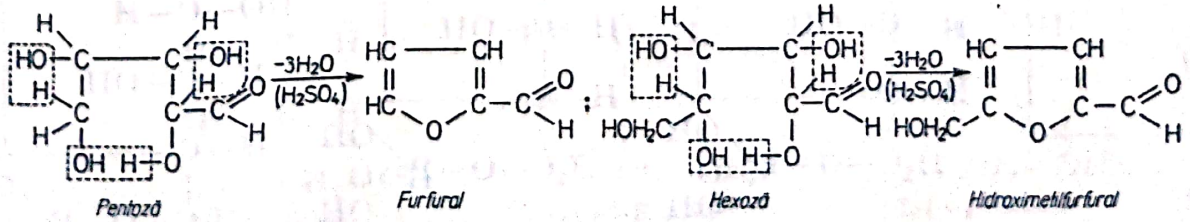
Sub acțiunea enzimelor digestive, amigdalina este hidrolizată în gențiobioză și nitrilul acidului mandelic.

Întrucît unele plante de nutreț conțin glicozizi cianogenetici, cînd acestea sînt consumate de animale, imediat după cosire, animalele se pot intoxica din cauza HCN ce ia naștere prin hidroliza enzimatică a glicozizilor. La uscarea prealabilă a acestor plante, HCN format se elimină, iar nutrețul în acest caz nu mai este toxic.

Dintre S-glicozizi, mai importanți sînt cei din muștar, cum este, de exemplu, sinigrina.

Reacții și derivați ai grupărilor HO-alcoolice. Datorită grupărilor HO alcoolice glucidele pot fi deshidratate și pot da naștere la eteri sau esteri.

Deshidratarea monoglucidelor. Sub acțiunea acizilor minerali tari, pentozele și hexozele sînt deshidratate la aldehide ciclice cu ciclu furanic. Astfel, pentozele trec în furfural, iar hexozele în hidroximetilfurfural:



Pentoză *Furfural* *Hexoză* *Hidroximetilfurfural*

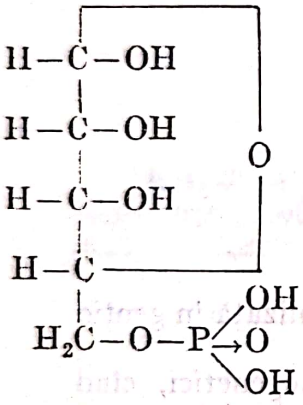
Furfuralul și derivații lui reacționează cu polifenolii sau naftolii, în prezență de acizi tari, și dau naștere la produși de condensare colorați, caracteristici (cromoreacții).

Esteri. Toate grupările HO din molecula glucidelor pot fi esterificate, atît cu acizi anorganici, cît și cu cei organici. Cel mai ușor se esterifică hidroxilul primar.

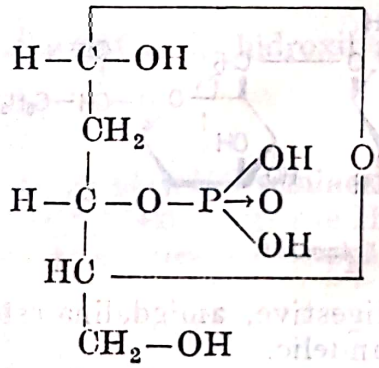
— *Esteri cu acizi anorganici.* Dintre acizii anorganici care participă mai frecvent la esterificare sînt: acidul ortofosforic sau fosforic și acidul sulfuric. Esterii monoglucidelor cu acidul ortofosforic se întîlnesc în toate transformările metabolice ale glucidelor, iar cu acidul sulfuric sînt întîlniți sub formă de componente ale mucopoliglucidelor.

Din punct de vedere biochimic mai importanți sînt esterii fosforici, întrucît ei intervin atît în formarea, cît și în descompunerea monoglucidelor în organism. Sub formă de esteri fosforici majoritatea monoglucidelor sînt reactive, putînd suferi transformări, fapt ce nu se poate petrece cu monoglucidele neesterificate. Acești esteri pot fi mono- sau difosforici. Se cunosc și esteri fosforici ai glucidelor, care reprezintă forme de stabilizare ale acestora. În organismele animale se află cantități dozabile din acești esteri.

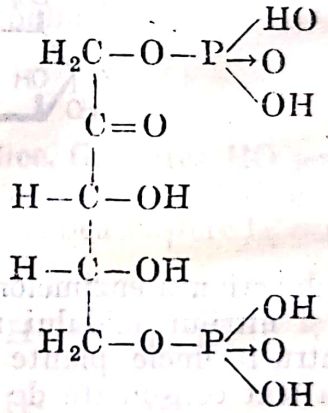
Dintre esterii fosforici ai pentozelor deosebit de importanți din punct de vedere biochimic sînt cei ai ribozei și ai ribulozei, în care restul de acid fosforic poate avea diferite poziții, de obicei însă se găsește în pozițiile 1, 3 sau 5.



Ester 5-fosfo-*D*-ribofuranoză (Ribozo-5-fosfat)

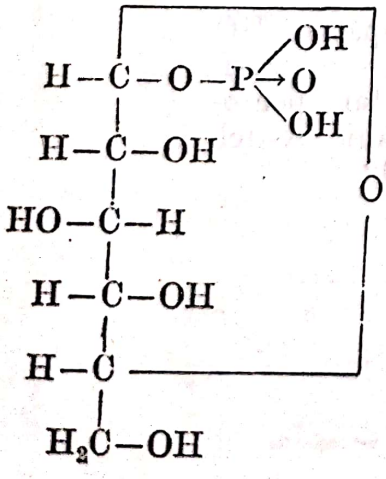


Ester 3-fosfo-deoxi-ribofuranoză (Deoxiribozo-3-fosfat)

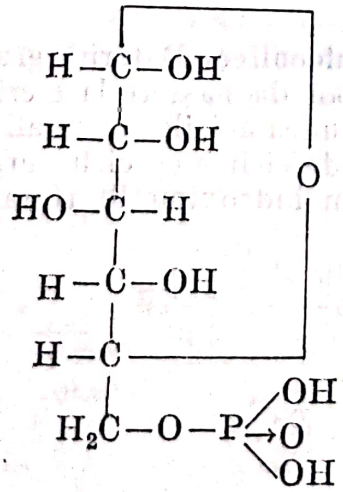


Ester 1,5—difosfo-ribuloză (Ribulozo-1,5-difosfat)

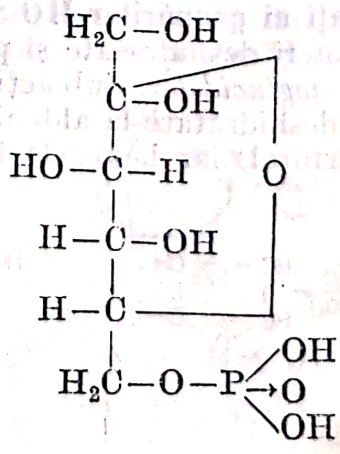
Dintre esterii fosforici ai hexozelor mai importanți sînt cei ai glucozei și fructozei.



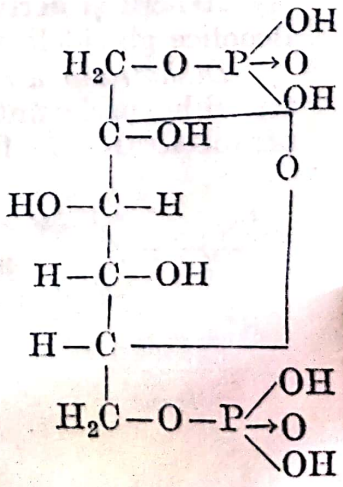
Esterul Cori (Glucozo-1-fosfat)



Esterul Robison (Glucozo-6-fosfat)



Esterul Neuberg (Fructozo-6-fosfat)



Esterul Harden-Young (Fructozo-1,6-difosfat)

Toți esterii fosforici au caracter acid și formează săruri de calciu și bariu solubile în apă. Una dintre numeroasele lor funcții este de a transporta, la nivelul țesutului osos, fosfatul de calciu necesar formării țesutului osos. Esterii fosforici ai glucozei prezintă importanță biochimică în sinteza amidonului și a glicogenului, în procesele de respirație, fermentație etc.

— *Esteri cu acizi organici.* Grupele hidroxil alcoolice ale monoglucidelor pot fi esterificate cu anhidridă acetică sau cu orice clorură acidă.

În natură se găsesc numeroși esteri organici, îndeosebi cu acizi fenolici, cum este acidul galic, constituind produși naturali numiți taninuri.

2.5.4. MONOGLUCIDE NATURALE MAI IMPORTANTE

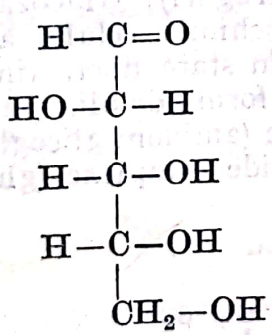
Trioze. În natură nu se găsesc trioze libere, ci ele rezultă ca produși intermediari ai metabolismului. Sub formă de esteri fosforici ele joacă un rol deosebit de important ca intermediari în transformările biochimice ale glucidelor. Există două trioze și anume : aldehida glicerică și dihidroxiacetona.

Tetroze. Sînt cunoscute mai multe aldotetroze și cetotetroze, dar nici una nu se găsește liberă în natură. Sub formă de esteri fosforici unele dintre ele sînt implicate în procesul de fotosinteză.

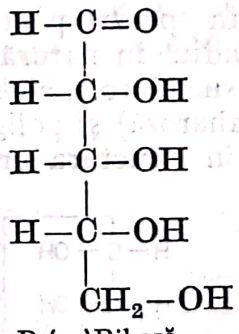
Pentoze. Pentozele se găsesc libere în natură, dar numai în cantități mici. Ele sînt foarte răspîndite ca poliglucide (pentozani), glicozizi, esteri. Unele dintre ele sînt componente ale acizilor nucleici, iar altele participă în procesul de fotosinteză. Ele sînt aldopentoze și cetopentoze, cu formula moleculară $C_5H_{10}O_5$. Pentozele apar în natură mai cu seamă ca aldoze. Ele au o stabilitate fiziologică mult mai mare decît hexozele, de aceea nu pot fi fermentate și transformate de organismul animal, ci sînt eliminate în urină (pentozurie). Unele vertebrate însă pot transforma arabinoza și xiloza în glicogen.

Aldopentoze. Cele mai importante și mai frecvent întîlnite sînt :

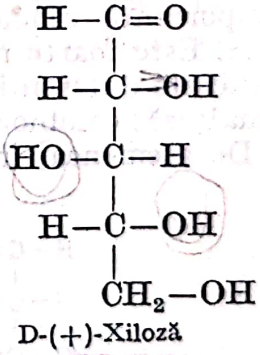
Seria *D*:



D-(−)-Arabinoză

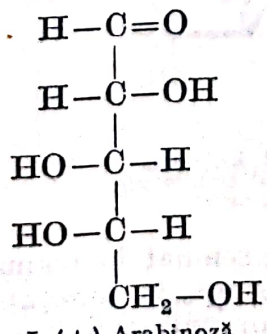


D-(−)Riboză

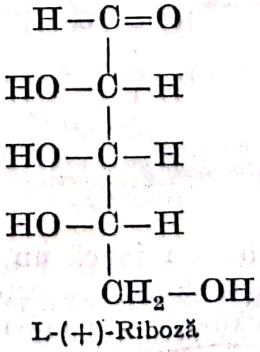


D-(+)-Xiloză

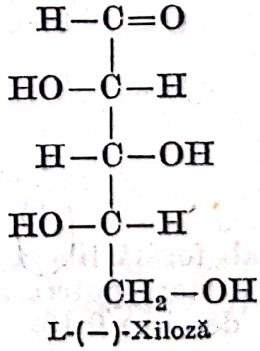
Seria *L*:



L-(+)-Arabinoză



L-(+)-Riboză



L-(−)-Xiloză

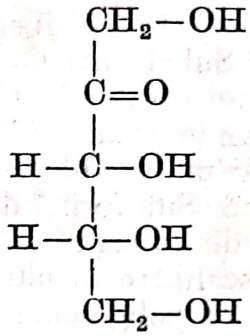
Scanned with OKEN Scanner

L-(+)-*Arabinoza* se găsește sub formă de poliglucide, numite arabani, îndeosebi în guma-arabică, sfecla de zahăr etc., din care se poate obține prin hidroliză acidă.

D-(—)-*Riboza* este un compus de mare importanță biochimică, deoarece intră în constituția acizilor ribonucleici și a ribozidelor din toate celulele vegetale și animale.

D-(+)-*Xiloza* este mult răspîndită în natură sub formă de poliglucide, numite xilani, mai ales în : paie, coceni de porumb, lemn, semințe de bumbac și de floarea-soarelui. Este o substanță foarte dulce și de aceea se mai numește și zahăr de lemn.

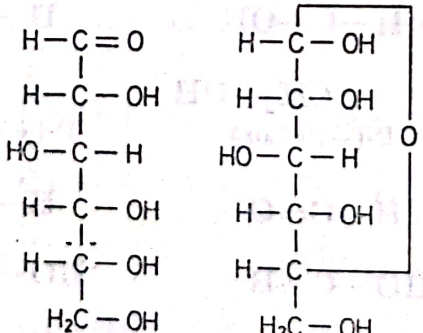
Cetopentoze. Dintre cetopentoze mai importantă este *D*-ribuloza, care joacă un rol important în procesul de fotosinteză.



D-Ribuloză

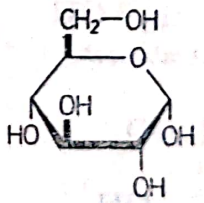
Hexoze. Hexozele sînt monoglucide cu formula moleculară $C_6H_{12}O_6$. Ele apar libere în natură, dar mai ales sub formă de poliglucide, glicozizi, esteri etc. Sînt substanțe cristaline, incolore și au gust dulce. Se dizolvă ușor în apă și greu în etanol. De importanță biochimică deosebită sînt aldohexozele : glucoza, manoza și galactoza ; de asemenea, cetohexozele fructoza și sorboza.

Aldohexoze. *D*-(+)-*Glucoza* (zahărul de struguri). Glucoza este cea mai importantă glucidă, în special pentru biochimia celulei animale și vegetale. Este foarte răspîndită în natură atît în stare liberă (în struguri, flori, fructele dulci, miere, sînge etc.), cît și sub formă de oligoglucide (lactoză, maltoză, celobioză, zaharoză) și poliglucide (amidon, glicogen și celuloză). De asemenea, intră în structura unor lipide complexe (glicolipide).



D-Glucoză (Formulă carbonilică sau aciclică)

α-D-Glucopiranoză (Formulă ciclică piranozică, formulă de proiecție)



α-D-Glucopiranoză (Formulă ciclică piranozică, formulă de perspectivă)

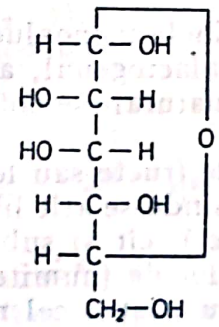
Sub formă liberă, *D*-glucoza joacă un rol însemnat în regnul animal, avînd o mare putere calorică. Ea se găsește în sînge, în concentrație constantă de circa 0,1%, iar scăderea sau mărirea concentrației duce la tulbu-

rări grave. În boala numită diabet apare *D*-glucoză în concentrație mărită în sînge și urină. În cantități mici, *D*-(+)-glucoza se află în toate umorile și țesuturile animale.

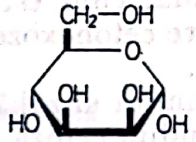
D-Glucoza cristalizată din apă este formă α, iar cea cristalizată din piridină sau alți solvenți organici este formă β. În soluție apoasă se stabilește un echilibru între cele două forme. *D*-Glucoza prezintă activitate optică, și anume rotește planul luminii polarizate puternic spre dreapta (+52,5°), fapt pentru care poartă și denumirea de dextroză.

Sub acțiunea microorganismelor, glucoza poate fi fermentată și transformată în două molecule de etanol și două de dioxid de carbon.

D-(+)-*Manoza*. În natură manoza se găsește numai sub formă de poliglucide, numite manani. Ea prezintă proprietățile fizico-chimice generale ale monoglucidelor arătate. Această oză intră în structura glicoproteidelor și a unor glicolipide :

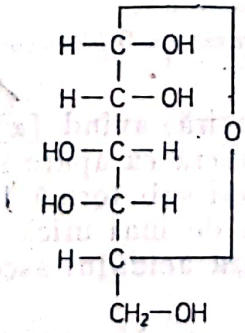


Formulă ciclică piranozică (formulă de proiecție)

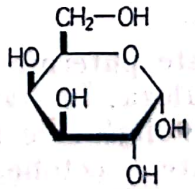


Formulă ciclică piranozică (formulă de perspectivă)

D-(+)-*Galactoza*. În natură se găsește numai sub formă combinată, îndeosebi ca ozide, cum sînt : diglucide (lactoză), triglucide și poliglucide. Se mai află în structura unor glicozide, în lipide complexe (cerebrozide) și a unor glicoproteide :



Formulă piranozică (formulă de proiecție)

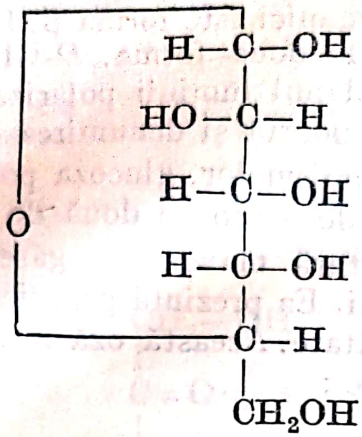


Formulă piranozică (formulă de perspectivă)

D-Galactoza se obține prin hidroliza lactozei. Experiențe *in vitro* au demonstrat că țesutul glandei mamare transformă *D*-glucoza în *D*-galactoză, fapt ce reprezintă principala cale biosintetică.

Scanned with OKEN Scanner

În organismele vegetale se găsește esterul metilic al acidului poligalacturonic ce este component al materiilor pectice, substanțe ce intră în construcția pereților celulari cu rol în coacerea și conservarea fructelor și legumelor.

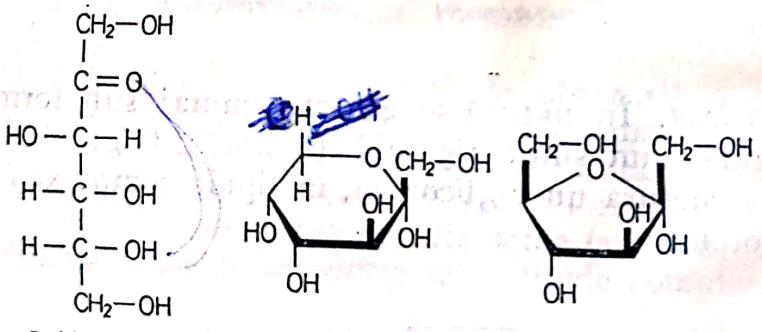


L-(—)-Galactoză

L-(—)-*Galactoza*. Este una din puținele monoglucide din seria L găsită în natură, ca poliglucidă, cum este galactogenul, agar-agarul și altele.

Cetohexozele. Dintre cetohexozele naturale se pot menționa *D*-(—)-fructoza și *L*-(—)-sorboza.

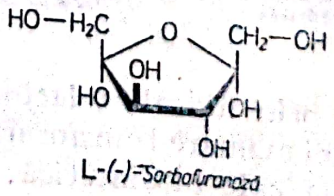
D-(—)-*Fructoza* (numită și zahăr de fructe sau levuloză). Este cea mai importantă și mai răspîndită cetoză, găsindu-se atît liberă (alături de *D*-glucoză în diferite fructe dulci, miere etc.), cît și sub formă combinată, în diglucide (zaharoză), triglucide și poliglucide (numite fructozani, cum este inulina). Fructoza este monoglucida cu gustul cel mai dulce.



D-(-)-Fructoză α-D-(-)-Fructopiranoză α-D-(-)-Fructofuranoză

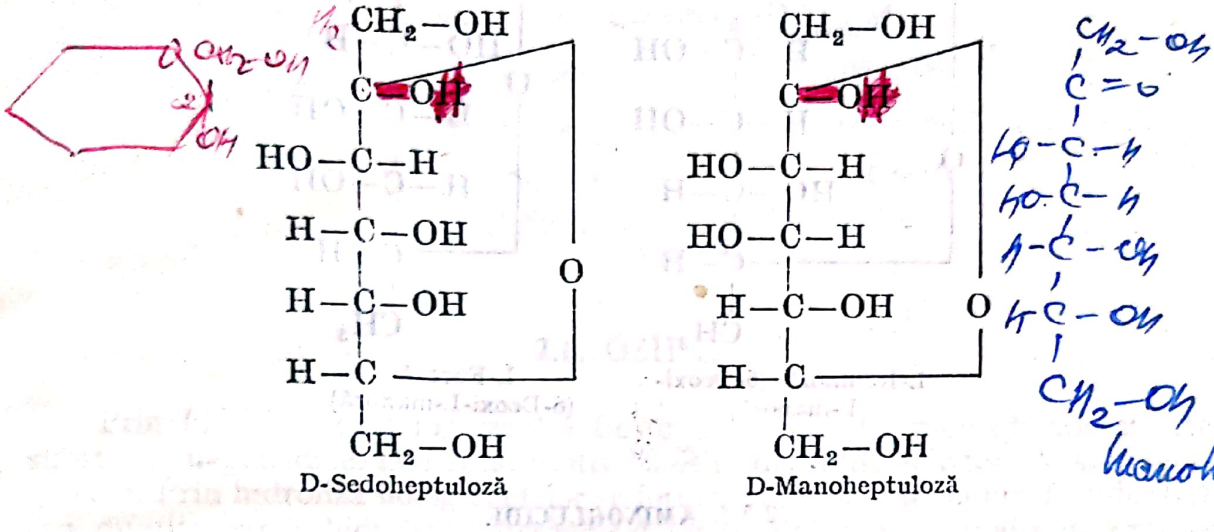
D-(—)-Fructoza este puternic levogiră, avînd $[\alpha]_D^{20} = -133°$, de unde vine și numele de levuloză. În stare liberă ea apare sub formă piranozică, iar în oligoglucide și poliglucide numai sub formă furanozică.

L-(—)-*Sorboza*. Este o cetohexoză de mai mică importanță practică, dar constituie un intermediar în sinteza acidului ascorbic (vitamina C) și în oxidarea *D*-sorbitolului.



L-(-)-Sorbofuranoză

Heptoze. Ele apar în natură în număr restrîns. Mai importante sînt două cetoze și anume: *D*-sedoheptuloza și *D*-manoheptuloza, care se găsesc în cloroplaste, sub formă de esteri fosforici. În natură cele două heptoze apar sub formă ciclică piranozică.



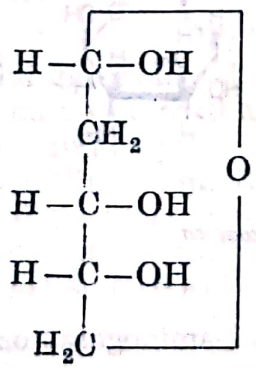
D-Sedoheptuloză

D-Manoheptuloză

2.5.5. DEOXIGLUCIDE

Sub această denumire sînt cuprinși derivați ai monoglucidelor în care o grupă hidroxil alcoolică este înlocuită cu hidrogen. Unele din aceste glucide se găsesc în natură și prezintă mare importanță biochimică. Cele mai importante sînt: deoxiriboza, ramoza sau 6-deoximanoza și fucoza sau 6-deoxi-galactoza.

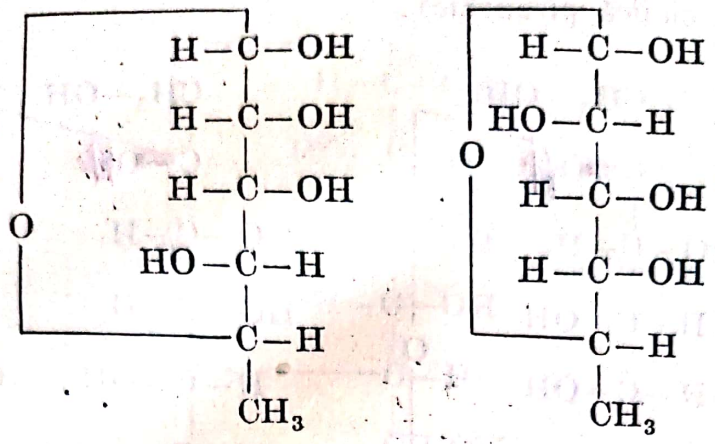
Deoxiriboza (2-deoxi-D-riboza) este o aldopentoză, care nu conține oxigen la C—2. Este una din cele mai importante deoxipentoze din organismele vii, fiind un component al acizilor deoxiribonucleici, după cum se va arăta la studiul nucleoproteidelor.



D-Deoxiriboză (formă piranozică)

L-Ramnoza și *L-fucoza* conțin 6 atomi de carbon în moleculă și sînt deci 6-deoxihexoze, numite de obicei metilpentoze. *L*-Ramnoza a fost

găsită în mulți glicozizi (antociani, saponine etc.). *L*-Fucoza este o componentă a poliglucidelor din grupele sanguine.



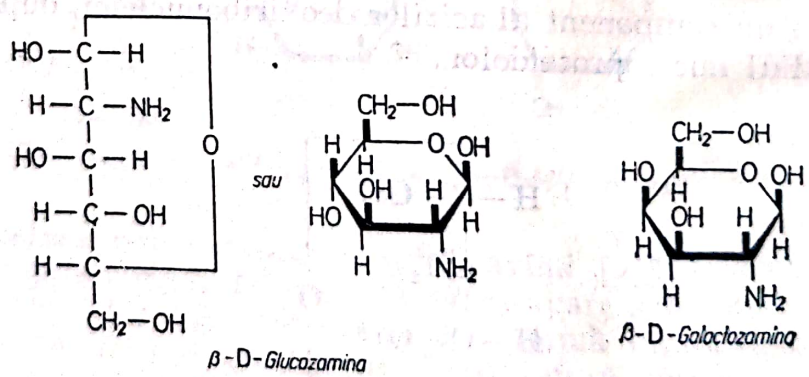
L-Ramnoză (6-Deoxi-L-manoză)

L-Fucoză (6-Deoxi-L-manoză)

2.5.6. AMINOGLUCIDE

Aminoglucidele sau ozaminele sînt de asemenea derivați ai monogluciderilor în care un hidroxil alcoolic este înlocuit cu gruparea aminică. Mai importante sînt: glucozamina, galactozamina și acidul neuraminic. Ele se află ca piranoze de forme β, în compuși macromoleculari, în unele țesuturi animale.

Glucozamina sau chitozamina corespunde ca structură D-glucozei, cu deosebirea că la C—2 conține gruparea NH_2, de aceea este denumită 2-deoxi-2-amino-glucoză. Ea are proprietăți reducătoare. Se găsește numai sub formă legată, de exemplu în: chitină, mucine, glicolipide și în poliglucide specifice de grup sanguin. În multe cazuri gruparea aminică este acetilată.

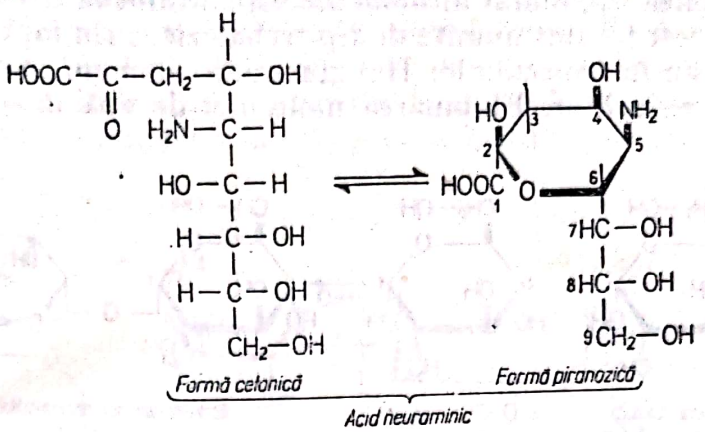


β-D-Glucozamina

β-D-Galactozamina

Galactozamina este 2-deoxi-2-aminogalactoză. Sub formă N-acetilată se găsește în poliglucidele complexe.

Acidul neuraminic. Este o aminoglucidă mai complexă, fiind formată dintr-un rest de acid piruvic și altul de manozamină. Sub formă de N-derivat, acidul neuraminic intră în compoziția glicolipidelor din membranele celulare a unor mucopoliglucide, glicoproteide și poliglucide specifice de grup sanguin.



2.6. OZIDE

Prin hidroliza ozidelor rezultă fie monoglucide, fie monoglucide și alte substanțe neglucidice. Din acest motiv ozele se divid în: hologlucide și heteroglucide. Prin hidroliza hologlucidelor se formează numai monoglucide, identice sau diferite, iar la hidroliza heteroglucidelor rezultă una sau mai multe molecule de monoglucide, identice sau diferite și substanțe neglucidice. Cele mai răspîndite și importante ozide pentru organismele animale sînt hologlucidele. Acestea sînt alcătuite numai din oze. În funcție de numărul de oze care intră în structura lor se disting: oligoglucide și poliglucide.

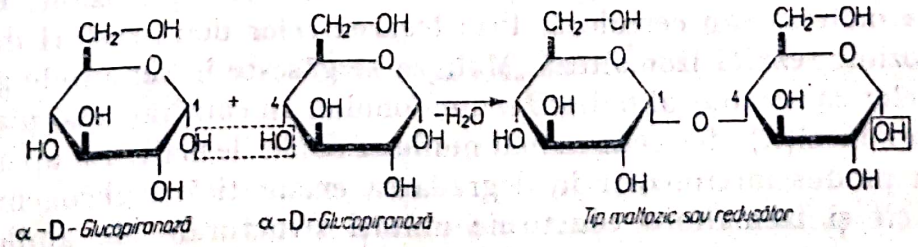
2.6.1. OLIGOGLUCIDE (OLIGOZAHARIDE SAU OLIGOZIDE)

Oligoglucidele sînt ozide care au moleculele compuse din puține resturi de monoglucide, din 2 pînă la 8, spre deosebire de poliglucide care au o structură macromoleculară. Ele sînt derivați funcționali ai monoglucidelor, la una din grupările OH semiacetal, cu caracter de eteri. După numărul de resturi de monoglucide legate se disting: diglucide (dizaharide), triglucide (trizaharide) etc. Legarea resturilor de monoglucide se face întotdeauna prin hidroxilul glicozidic al uneia dintre ele, astfel că oligoglucidele sînt combinații asemănătoare glicozizilor sau eterilor, în care însă agliconul este o glucidă:

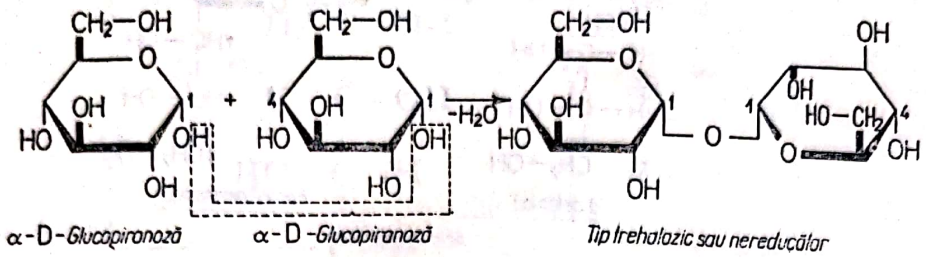
$$R{-}OH + HO{-}R_1 \rightarrow R{-}O{-}R_1 + H_2O$$

Diglucidă

Într-o diglucidă, hidroxilul glicozidic al unuia dintre resturile de monoglucidă poate fi esterificat fie cu un hidroxil alcoolic, fie cu un hidroxil glicozidic al celuilalt rest. De aici rezultă că pot fi două tipuri de diglucide. Primul tip, numit *monocarbonilic*, este întîlnit în maltoză și de aceea mai poartă denumirea de tip maltozic. Toate diglucidele de acest tip au caracter reducător, deoarece posedă o grupare hidroxil glicozidică liberă. Eliminarea de apă în formarea acestui tip de diglucide se face astfel:



Cel de-al doilea tip, numit *dicarbonilic* este întîlnit la trehaloză și de aceea diglucidele de acest fel sînt numite de tip trehalozic. Prin faptul că diglucidele de acest tip nu au în molecula lor HO glucozidic liber nu se pot oxida și deci nu au caracter reducător. Eliminarea moleculei de apă în acest caz se face astfel:



După același principiu se pot forma și triglucidele, tetraglucidele etc. și în consecință ele pot fi reducătoare sau nereducătoare.

Monoglucidele ce intră în structura oligoglucidelor se găsesc sub formă piranozică și mai rar furanozică. Ele pot apărea sub formă de izomeri α sau β, iar legătura dintre monoglucide poate fi α- sau β-glicozidică.

Oligoglucidele sînt substanțe cristalizate, incolore, solubile în apă și insolubile în solvenți organici. Ele au gust dulce. Soluțiile lor sînt optic active. Multe din proprietățile fizice și chimice ale oligoglucidelor sînt cele întîlnite la monoglucide. Prin oxidare diglucidele reducătoare dau naștere la hidroxiacizi, numiți acizi bionici.

Cea mai importantă proprietate chimică a oligoglucidelor atît reducătoare, cît și nereducătoare este hidroliza. Astfel, prin încălzirea cu acizi ele se scindează hidrolitic în monoglucidele componente. Hidroliza este, totodată, o caracteristică a fiecărei oligoglucide; cele formate din monoglucide furanozice se hidrolizează cu viteză mai mare decît cele compuse din monoglucide piranozice. În organism scindarea este realizată de enzime de clasa hidrolazelor, îndeosebi de glicozidaze și de fosforilaze. Sub acțiunea fosforilazelor este scindat glicogenul în glucozo-1-fosfat.

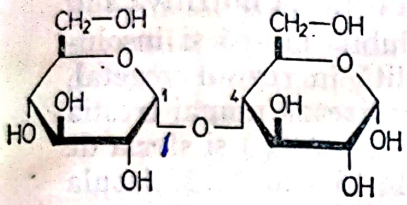
Diglucide. Cele mai importante și mai răspîndite oligoglucide sînt diglucidele. Ele se găsesc mai ales în regnul vegetal și mai puțin în cel animal, unele din ele fiind caracteristice plantelor, iar altele animalelor. Cele mai importante diglucide sînt cele formate din hexoze și de aceea formula lor generală este $C_{12}H_{22}O_{11}$. Se cunosc și diglucide formate din pentoze, precum și din pentoză și hexoză. În denumirea lor sistematică se indică poziția atomului de carbon al cărui hidroxil a reacționat, monoglucida componentă și natura legăturilor glicozidice.

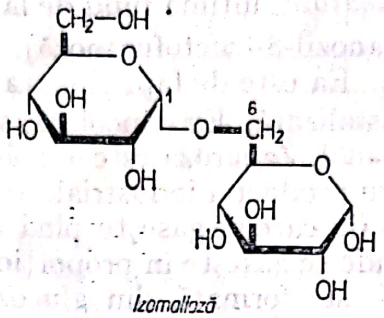
Diglucide reducătoare. Cele mai importante diglucide reducătoare sînt: maltoza, lactoza și celobioza.

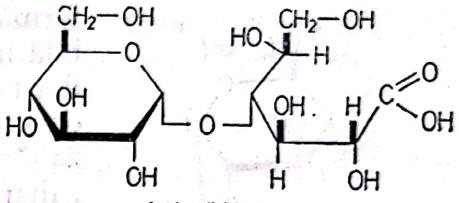
— *Maltoza* (4-α-glucopiranozil-glucoză). Este o diglucidă reducătoare formată din două resturi de α-D-glucopiranoză legate 1,4-α-glucozidic. Ea se mai numește α-maltoză sau cerealoză. Prin legarea celor două resturi de glucoză 1,6-α-glicozidic rezultă izomaltoză. Maltoza se găsește în semințele germinate ale cerealelor ca rezultat al hidrolizei amidonului. În cantități mai mari se află în malț (orz încolțit), de aceea se mai numește zahăr de malț. Ea apare de asemenea ca produs intermediar în degradarea enzimatică a glicogenului. Atît maltoza, cît și izomaltoza constituie unități structurale ale amilopectinei.

Scanned with OKEN Scanner

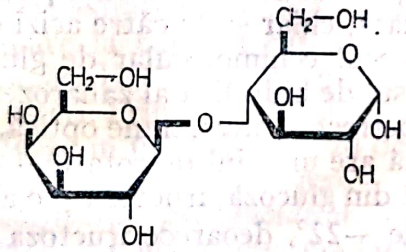
Maltoza este o substanță ușor solubilă în apă, avînd o rotație specifică de $[\alpha]_D^{20} = +138°$. Ea poate fi hidrolizată, obținîndu-se două molecule de α-D-glucoză. Maltoza fiind reducătoare, prin oxidarea ei se obține acidul maltobionic. Ea poate fi hidrolizată enzimatic în glucoză, iar aceasta din urmă fermentată de către drojdie pînă la CO_2 și etanol, reacție ce stă la baza fabricării berii din malț.

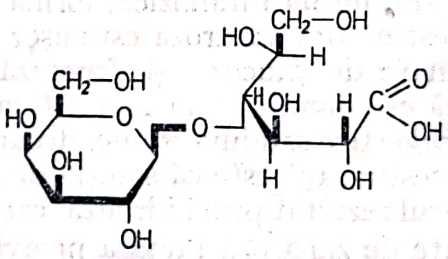

Maltoză


Izomaltază


Acid maltobionic

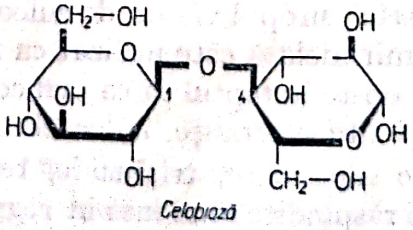
— *Lactoza* (4-β-galactopiranozil-glucoză). Lactoza este formată dintr-un rest de β-D-galactopiranoză și altul de α-D-glucopiranoză, legate 1,4-β-glicozidic. Lactoza este un diglucid de origine animală. Este numită și zahăr din lapte, deoarece ea este cel mai important glucid din lapte, găsindu-se în laptele tuturor mamiferelor. Laptele de femeie conține circa 6%, iar cel de vacă 4,5%. Ea se obține prin evaporarea și cristalizarea zerului rămas după îndepărtarea cazeinei din laptele smîntînit.


Lactoză


Acid lactobionic

În stare pură lactoza se prezintă sub formă de cristale albe, solubile în apă, dar insolubile în solvenți organici. Prin hidroliza lactozei sub acțiunea lactazei (β-galactozidazei) rezultă o moleculă de galactoză și una de glucoză. Deficitul în această enzimă determină galactozemie. Lipsa acestei enzime, îndeosebi la animalele tinere care se alimentează cu lapte, poate produce tulburări foarte grave, ca urmare a incapacității de transformare: galactoză → glucoză. Lactoza de formă α are $[\alpha]_D^{20} = +90°$, iar cea β are $[\alpha]_D^{20} = +31°$ (amestecul lor, la echilibru are rotație de +55°). Prin oxidare rezultă acid lactobionic. Lactoza este utilizată la prepararea unor făinuri nutritive și în industria farmaceutică la prepararea comprimatelor.

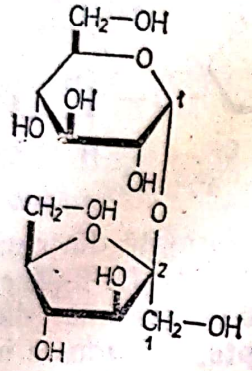
— *Celobioza* (4-β-glucopiranozil-glucoză). Celobioza este un diglucid format, din β-D-glucopiranoză în care resturile sînt legate în pozițiile 1,4-β-glico-


Celobioză

zidice, ceea ce determină un unghi de rotire cu 180° a unui rest de monoglucid față de celălalt. Celobioza constituie unitatea structurală a celulozei. Ea apare însă și liberă în organismele unor melci și omizi, precum și în stomacul erbivorelor ca produs de hidroliză al celulozei. Prin hidroliza celobiozei se formează două molecule de glucoză.

Diglucide nereducătoare (de tip trehalozic). Diglucidele nereducătoare mai cunoscute sînt: *trehaloza* și *zaharoza*, ultima fiind de largă utilizare.

— *Zaharoza* (α-glucopiranozil-β-fructofuranoză). Este denumită și zahăr de trestie sau zahăr de sfeclă. Ea este de fapt singura substanță nutritivă sub formă cristalizată. Este incoloră, solubilă în apă și insolubilă în etanol. Zaharoza este răspîndită în regnul vegetal, dar pentru producția industrială se utilizează numai trestia de zahăr (în care se găsește pînă la 23—24%) și sfecla de zahăr (unde se găsește în proporție de 16—20%). Molecula zaharozei este formată din glucoză și fructoză și anume din α-*D*-(+)-glucopiranoză și β-*D*-(—)-fructofuranoză. Deoarece legătura dintre cele două resturi de monoglucide este realizată în pozițiile 1,2 ea nu posedă nici o grupare HO glicozidică liberă și în consecință nu are caracter reducător și nu prezintă fenomenul de mutarotație. Ea prezintă activitate optică și anume este dextrogiră, avînd un unghi de rotație de + 66,5°.


Zaharoză

Din punct de vedere chimic este important faptul că în zaharoză, fructoza se află sub formă furanozică, formă mai puțin stabilă decît forma piranozică. Din acest motiv, zaharoza este ușor hidrolizată, chiar și de către acizi diluați, cu formare de glucoză și fructoză. Amestecul echimolecular de glucoză și fructoză este numit zahăr invertit, iar procesul de hidroliză al zaharozei se numește invertire sau inversiune, deoarece se petrece o inversiune optică. Explicația acestui fapt este că soluția de zaharoză are unghiul de rotație +66°, iar amestecul rezultat prin hidroliză, care constă din glucoză, fructoză și o anumită cantitate de zaharoză rămasă neinvertită de —22°, deoarece fructoza rotește mai puternic spre stînga:

$$\underset{[\alpha]_D^{20}\ :+\ 66°}{\text{Zaharoză} + H_2O} \rightarrow \underset{+52{,}5° \qquad -93°}{\text{Gluzoză} + \text{Fructoză}}$$

$$-40{,}5°$$

Enzima care produce invertirea zaharozei este denumită invertază. Amestecul rezultat (zahărul invertit) este, alături de zaharoză, principalul constituent al mierii, gustul puternic dulce al mierii fiind dat de fructoză. Acest amestec manifestă proprietatea chimică reducătoare.

Prin faptul că zaharoza constituie un produs industrial de larg consum există multe fabrici specializate în prepararea ei. În țara noastră se obține zaharoză din sfeclă de zahăr. Unele produse reziduale de la aceste fabrici se utilizează în zootehnie. Astfel, siropul vîscos, de culoare brună, obținut în urma cristalizării zaharozei, numit melasă este utilizat ca furaj pentru animale. Valoarea furajeră a melasei constă în faptul că ea mai conține circa 50% zaharoză necristalizabilă, precum și alte substanțe, îndeosebi săruri minerale și protide.

Printre oligoglucidele superioare, triglucide, tetraglucide etc., se cunosc diferiți reprezentanți, mai răspîndite fiind însă în regnul vegetal.

Scanned with OKEN Scanner

2.6.2. POLIGLUCIDE (POLIZAHARIDE SAU POLIHOLOZIDE)

Poliglucidele au o structură macromoleculară, fiind constituite dintr-un mare număr de resturi de monoglucide sau derivaţi ai acestora, legate între ele prin legături glicozidice. Ele se formează după principiul de formare a oligoglucidelor, prin eliminare de apă între monoglucide. Legăturile glicozidice, în cazul grupării aldohexozelor sînt realizate în mod frecvent α- sau β-glicozidic, între C—1 şi C—4 (legături 1,4), dar pot fi şi legături 1,6 sau 1,3 şi foarte rar 1,2. La poliglucidele constituite din cetoze, legăturile sînt 1,5-glucozidice. Unele poliglucide posedă masă moleculară mică, corespunzătoare la 30—90 resturi de monoglucide, dar cele mai multe şi mai importante conţin cîteva sute sau mii de unităţi de monoglucide (în general, numărul unităţilor de monoglucide este cuprins între 1000 şi 5000).

Rolul poliglucidelor în organismele vii este diferit. În plante, ele servesc ca substanţe de susţinere (conferă soliditate mecanică, cum este celuloza) sau ca substanţe de rezervă ale seminţelor şi rădăcinilor (cum este amidonul). În organismele animale, funcţia de structură a poliglucidelor este rară (unele poliglucide formează carapacea solidă a insectelor şi crustaceelor), dar ca substanţă de rezervă se depozitează sub formă de glicogen, îndeosebi în ficat şi muşchi.

Majoritatea poliglucidelor se prezintă sub formă de pulberi albe, cu aspect amorf, insolubile sau greu solubile în apă. Prin dizolvare ele dau naştere, de fapt, la soluţii coloidale şi nu la soluţii moleculare.

Poliglucidele, avînd atomi de carbon asimetrici, sînt optic active. Ele nu au proprietăţi reducătoare, deoarece toate resturile de monoglucide sînt legate prin intermediul hidroxilului glucozidic (conţin doar o singură grupare HO reducătoare la capătul catenei). Poliglucidele conţin grupări hidroxil libere (trei grupări HO la fiecare unitate monoglucidică) şi deci pot da naştere la eteri şi esteri. Prin hidroliză în mediu acid sau cu enzime specifice, poliglucidele se scindează în produşi cu grad de policondensare din ce în ce mai mic, iar în final în monoglucidul de bază.

Clasificarea poliglucidelor. După structura lor chimică se pot deosebi două clase de poliglucide: una fără aminoglucide şi alta constituită din aminoglucide. Clasa poliglucidelor care nu conţin aminoglucide se divid în omogene, care sînt formate numai dintr-un singur fel de monoglucide, de aceea mai sînt numite unitare şi neomogene sau mixte, care sînt formate din mai multe tipuri de monoglucide. Fiecare din aceste grupe se subdivid în mai multe grupe, după monoglucida participantă. Clasificarea generală a poliglucidelor este redată în figura 2.1.

- Poliglucide
  - Fără aminoglucide
    - Omogene
      - Hexozani
        - Glucani
        - Fructani
        - Manani
        - Galactani
      - Pentozani
        - Xilani
        - Arabani etc.
    - Neomogene
      - Constituite din mai multe feluri de monoglucide
        - Arabo-xilani
        - Gluco-arabani
        - Galacto-manani etc.
      - Poliglucide bacteriene (au compoziţie variată)
  - Cu aminoglucide
    - Mucopoliglucide

Fig. 2.1. Clasificarea generală a poliglucidelor.

Din această grupă cele mai importante pentru organismele animale sînt poliglucidele omogene (constituite din hexoze) și poliglucidele neomogene din bacterii.

Poliglucide omogene. Cele mai răspîndite și mai importante sînt poliglucidele omogene, la structura cărora participă hexozele și de aceea formula generală atribuită lor este de $(C_6H_{10}O_5)_n$. Unele poliglucide sînt de natură vegetală, iar altele de natură animală.

Dintre poliglucidele formate numai din resturi de glucoză mai importante sînt: amidonul, glicogenul și celuloza. Ele sînt denumite, în general, glucani.

Amidonul. Amidonul este un glucan și are formula moleculară $(C_6H_{10}O_5)_n$. Este cea mai răspîndită poliglucidă de rezervă din regnul vegetal și reprezintă o importantă sursă de glucide pentru toate animalele, avînd un rol însemnat în alimentația omului și a animalelor. Amidonul se formează în frunzele plantelor verzi prin procesul de fotosinteză. Sub influența enzimelor hidrolitice din frunze, amidonul este scindat în glucoză, care este transportată la anumite organe ale plantei unde are loc procesul de resinteză a amidonului și depozitarea lui sub formă de granule. În acest fel, în diferite părți ale plantelor, îndeosebi în semințe, amidonul se acumulează atingînd 62—82% în boabele de orez, 65—72% în cele de porumb, 57—75% în cele de grîu, 14—20% în tuberculii de cartofi. În stare pură, amidonul se prezintă ca o pulbere albă, care după uscare este higroscopică, este insolubil în apă rece, dar se dizolvă, la cald, cu formare de soluții coloidale, opalescente. Din soluții concentrate, prin răcire, se obține „cleiul" de amidon. Amidonul solubil *(Amylum solubile)* utilizat în practica de laborator este un produs de degradare parțială a amidonului.

În ceea ce privește structura chimică a macromoleculei de amidon, se știe că este compusă din resturi de α-D-glucopiranoză legate 1,4-α- și 1,6-α-glicozidic. Astfel, granula de amidon este constituită din două componente și anume: amiloză (20—30%) și amilopectină (70—80%), ambele găsindu-se repartizate în mod uniform în întreaga granulă. Cele două componente se pot deosebi atît prin proprietăți fizice, cît și chimice. Astfel, amiloza se dizolvă bine în apă și nu formează cocă, pe care o formează amidonul, iar cu iodul se colorează în albastru închis. Amilopectina se îmbibă limitat în apă rece și nelimitat în apă fierbinte. Soluțiile apoase ale amilopectinei sînt de natură coloidă, vîscoase, iar prin răcire se transformă în gel. Cu iodul amilopectina se colorează în albastru-violet. Cele două componente se deosebesc și din punct de vedere structural, deoarece gradul lor de policondensare este diferit. Amiloza este construită din 250—2100 resturi de D-glucoză, legate între ele prin legături 1,4-α-glicozidice (fig. 2.2).

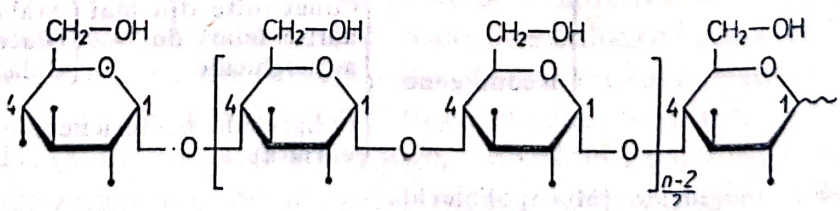


Fig. 2.2. Structura amilozei.

Unitatea de bază structurală a amilozei este maltoza, iar între aceste unități se află legătura 1,4-α-glicozidică. Avînd legătura α-glicozidică, amilozei i se conferă o structură liniară, cu moleculele întinse, iar întregul lanț al moleculei este dispus în spațiu în spirală, așa-numita configurație helicoidală, fiecare spirală fiind alcătuită din 6 resturi de *D*-glucoză (fig. 2.3.). Datorită acestei

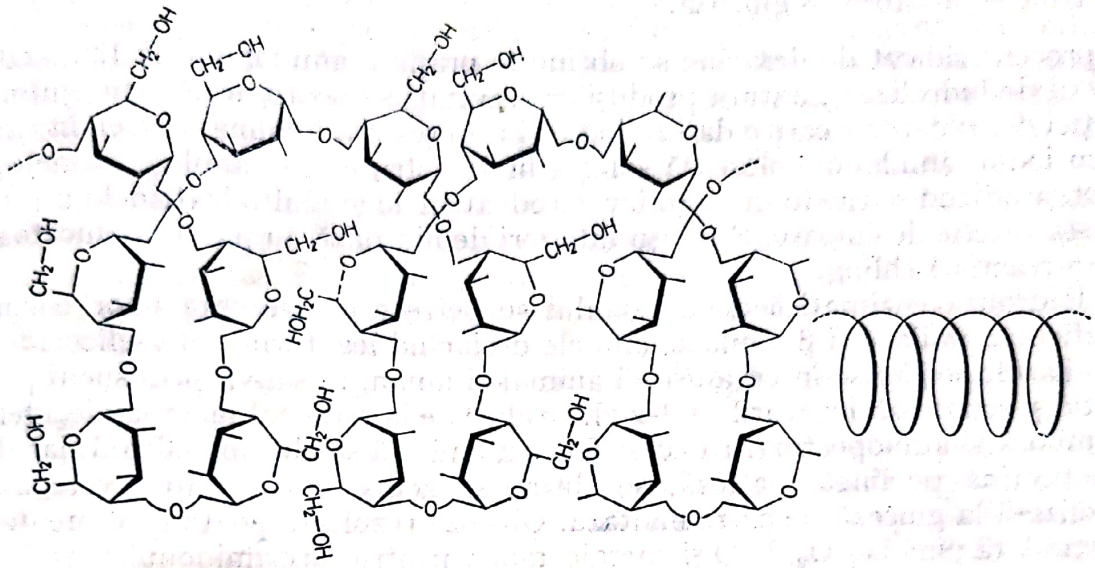


Fig. 2.3. Structura spațială a amilozei.

aranjări, în interiorul spiralelor apare un spațiu liber sub formă de canal, în care pot pătrunde molecule străine. Reacția de culoare cu iodul se explică prin aceea că moleculele de iod sînt dispuse în spațiul dintre spire sub formă incluzionată. Masa moleculară a amilozelor provenite din amidon nativ variază în limite destul de largi, în funcție de origine, fiind cuprinsă între 10000—340000.

Amilopectina este și ea formată din *D*-glucoză, dar legată 1,4-α-glicozidic și 1,6-α-glicozidic și deci are o structură ramificată (o ramificație la 25—30 resturi de glucoză) construită atît din unități de maltoză, cît și de izomaltoză (fig. 2.4.). Masa moleculară a amilopectinei este mult mai mare decît a amilo-

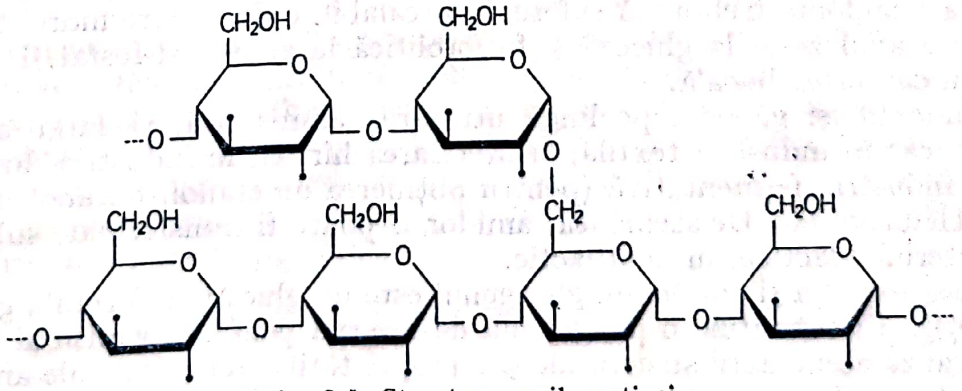


Fig. 2.4. Structura amilopectinei.

zei, atingînd valori de cîteva milioane. În amilopectină se află și H_3PO_4 legat sub formă esterică la C—6.

Cea mai importantă reacție a amidonului este hidroliza. Prin hidroliza totală a amidonului se obține aproape cantitativ α-*D*-glucoză. În prezență de acizi, enzime sau prin încălzire, hidroliza are loc treptat, mai întîi cu formare

Scanned with OKEN Scanner

de produşi macromoleculari, indivizi chimic nedefiniţi, numiţi dextrine, apoi maltoză şi, în final, glucoză. Procesul de hidroliză a amidonului decurge schematic astfel:

Amidon → amilodextrine → eritrodextrine → acrodextrine → maltodextrine → maltoză → glucoză.

Un procent ridicat de dextrine se obţine la prăjirea amidonului la 180—220°. Gradul de hidroliză şi natura produşilor rezultaţi se poate urmări cu ajutorul reacţiei de culoare pe care o dau cu iodul şi prin reacţia Fehling. Astfel, în reacţia cu iodul, amidonul colorează soluţia în albastru-intens, amilodextrinele în violet şi eritrodextrinele în roşu, iar acrodextrinele şi maltodextrinele nu dau această reacţie de culoare. Produşii inferiori de hidroliză au putere reducătoare şi dau reacţia Fehling.

Hidroliza enzimatică a amidonului se petrece în prezenţa unor enzime specifice: α-amilaze şi β-amilaze, ambele desfăcînd legăturile 1,4-α-glicozidice. α-Amilazele se găsesc în organismul animal şi uman, în salivă şi în sucul pancreatic şi scindează legăturile 1,4-α-glicozidice de la mijlocul macromoleculelor de amiloză şi amilopectină. În acest fel, din amiloză se obţine maltoză, iar din amilopectină pe lîngă maltoză, se obţine şi izomaltoză. Maltoza este apoi hidrolizată la glucoză de către maltază. Glucoza rezultată poate fi fermentată şi degradată pînă la CO_2, H_2O şi energie, motiv pentru care amidonul constituie o sursă de energie pentru organismele animale. β-Amilazele se află în plante, mai ales în seminţe. Ele desfac de asemenea legăturile 1,4-glucozidice, dar spre deosebire de α-amilaze desprind rînd pe rînd moleculele de maltoză începînd de la capătul reducător al macromoleculei. Amiloza este hidrolizată aproape complet la maltoză, iar amilopectina numai parţial, deoarece la locul de ramificaţie efectul acţiunii enzimei încetează, ceea ce duce la maltoză şi dextrine. Rezultă deci că nici β-amilazele nu pot acţiona asupra ramificaţiilor din molecula amidonului,

Procesul de degradare hidrolitică a amidonului prezintă o importanţă deosebită pentru organismul animal, deoarece glucidele alimentare sînt în cea mai mare parte reprezentate prin amidon, pe care însă organismul nu-l poate absorbi direct prin mucoasa intestinală, ci numai sub formă de monoglucide. De aceea, amidonul trebuie să sufere, în prealabil, o degradare hidrolitică sub acţiunea α-amilazelor la glucoză şi fosforolitică la glucozo-1-fosfat. Hidroliza începe în cavitatea bucală.

Amidonul îşi găseşte, pe lîngă utilizarea alimentară, şi largi aplicaţii practice, ca: în industria textilă, la fabricarea hîrtiei, în industria farmaceutică, în industria fermentativă (pentru obţinerea de etanol, butanol, acetonă etc.), a cleiurilor etc. De asemenea, amidonul poate fi transformat, sub acţiunea bacteriilor lactice, în acid lactic.

Glicogenul. Ca şi amidonul, glicogenul este un glucan cu formula generală $(C_6H_{10}O_5)_n$. El constituie o poliglucidă de rezervă pentru organismul animal, iar din cauza asemănării structurale şi a proprietăţilor lui cu cele ale amidonului este denumit şi „amidon animal". Glicogenul se găseşte în celulele tuturor organelor animale (creier, ficat, muşchi, nervi), dar în cantităţi mari el se acumulează în ficat şi în muşchi. Această acumulare este realizată din oligoglucidele şi poliglucidele din hrană, care mai întîi sînt hidrolizate aşa cum s-a arătat la degradarea hidrolitică a amidonului, în timpul digestiei, pînă la monoglucide, acestea apoi se resorb prin mucoasa intestinală şi servesc la sinteza glicogenului. Sinteza glicogenului, numită glicogeneză îşi are sediul în ficat, din glucoza provenită din alimente. Din rezerva de glicogen, organismul îşi

Scanned with OKEN Scanner

transformă o parte, în mod progresiv, în glucoză, realizîndu-se astfel o concentrație constantă de glucoză în sînge: glicogen + $H_2O \rightleftharpoons$ glucoză. Acest echilibru este menținut în organism de acțiunea antagonistă a celor doi hormoni, adrenalină și insulină (v. „Hormoni"). Pe seama glucozei din sînge, mușchii își constituie, în fiecare celulă, depozite mici de glicogen, care servesc în glicoliză. Glicogenul a mai fost identificat în alge, în drojdie și chiar în unele plante superioare, precum și în unele microorganisme (bacterii și drojdii).

Constituția și configurația moleculei glicogenului sînt asemănătoare amilopectinei, cu deosebirea că moleculele de glicogen sînt mai mari și mai ramificate, de un format stufos. Lungimea ramificațiilor din glicogen este de 6—7 resturi de glucoză la periferia moleculei, iar în partea centrală a moleculei la fiecare 3—4 resturi de glucoză se formează o ramificație.

Masa moleculară a glicogenului este diferită, în funcție de proveniență, fiind situată între $5—20 \cdot 10^6$.

În stare pură, glicogenul se prezintă sub forma unei pulberi albe, mai solubilă în apă decît amidonul, cu formarea unei soluții coloide, opalescente. În solvenți organici, glicogenul este insolubil. Cu iodul, glicogenul formează o colorație roșie-brună. Prin faptul că în molecula glicogenului există atomi de carbon asimetrici, manifestă proprietăți optice și anume este dextrogir.

Prin scindarea glicogenului se formează în final, glucoza, respectiv glucozo-fosfat. Scindarea se realizează fosforolitic, cu participarea acidului ortofosforic și în prezența fosforilazei (1,4-glucanfosfatglucoziltransferază). În acest fel se rup doar legăturile 1,4-glicozidice. Scindarea legăturilor 1,6 se realizează prin acțiunea conjugată a două enzime și anume: 1,4-1,6-glucantransferaza și 1,6-glucozidaza.

În afară de glicogen, în animalele inferioare se găsesc și poliglucide de rezervă, cum este *galactogenul*, produs de melcul *Helix pomatia*. Galactogenul are o structură mult mai ramificată decît a glicogenului și este format din resturi de *D*-galactopiranoză unite prin legături 1,6 și 1,3-glicozidice.

Celuloza. Este cel mai răspîndit poliglucid. Ea este constituentul principal al tuturor plantelor, găsindu-se în pereții celulelor vegetale în care este intim amestecată cu alte substanțe. Astfel, în bumbac se găsește în proporție de 99,8% (vata și hîrtia de filtru find celuloză aproape pură), în lemn 30—50% etc. Molecula celulozei este formată din resturi de β-*D*-glucopiranoză legate 1,4-β-glicozidic, în care resturile de glucoză sînt rotite unul față de altul cu 180°, iar unitatea structurală a celulozei este celobioza. Rezultă de aici că celuloza are o structură liniară (fig. 2.5.).

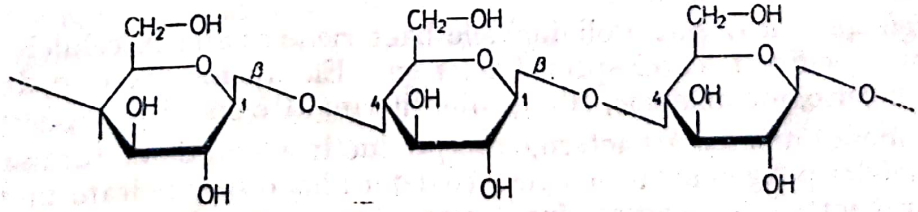


Fig. 2.5. Fragment din structura celulozei.

Celulozele provenite din deferite plante nu sînt identice; ele se deosebesc prin masa moleculară și deci prin numărul de resturi de glucoză din molecula lor. Astfel, celuloza din bumbac are masa moleculară 1 700 000, cea din cînepă 5 900 000, iar cea din lemn 240 000—300 000.

În stare pură celuloza este o substanță de culoare albă, cu aspect amorf, fără gust și fără miros. Ea nu se dizolvă în apă și nici în alți solvenți, ci doar

Scanned with OKEN Scanner

în reactivul Schweizer (hidroxid tetraamoniacocupric, $[Cu(NH_3)_4](OH)_2$, din care poate fi precipitată apoi prin adăugare de acizi minerali tari. La tratarea celulozei cu o soluție de NaOH 5% se produce fenomenul de imbibație, care se manifestă printr-o mărire considerabilă a volumului.

Celuloza poate fi hidrolizată, în prezență de acizi, în fracțiuni din ce în ce mai mici pînă la celobioză și apoi la *D*-glucoză.

$$\text{Celuloză} \xrightarrow[(H+)]{\text{hidroliză}} \text{celobioză} \longrightarrow D\text{-glucoză}$$

Reacția de hidroliză a celulozei poate decurge și în prezența enzimei specifice, numită celulază, pînă la celobioză, care este scindată mai departe de către celobiază la *D*-glucoză. Ierbivorele pot degrada celuloza datorită microflorei (ciuperci, protozoare și bacterii) din rumen (la rumegătoare) sau din intestinul gros (la cabaline). Prin degradarea biochimică aerobă, celuloza este transformată în CO_2 și H_2O.

În afară de poliglucidele formate din glucoză se cunosc o serie de poliglucide naturale care sînt constituite din fructoză, manoză, galactoză sau alte hexoze, sau din diferite pentoze. Astfel, în mediile de cultură care conțin zaharoză numeroase bacterii sintetizează fructani, numiți și levani, care supuși hidrolizei produc numai *D*-fructoză. Dar, în medii de cultură se pot sintetiza și alte poliglucide, după natura bacteriilor utilizate. Așa de exemplu, în mediile de cultură ce conțin zaharoză, unele bacterii și ciuperci sintetizează dextrani, care sînt glucani dextrogiri.

Din algele roșii recoltate se izolează galactanul numit *agar-agar* sau *gelozã*. Aceast poliglucid este alcătuit din două componente: agaroza, care formează componentul principal și agaropectina, cu structuri asemănătoare amilozei și amilopectinei. Agaropectina mai conține și resturi ale unui acid uronic, ceea ce denotă că este o poliglucidă neomogenă.

În regnul vegetal, poliglucidele omogene constituite din pentoze sînt de asemenea extrem de numeroase. Așa de exemplu, arabanii sînt poliglucide care intră în alcătuirea hemicelulozelor, a gumelor vegetale și a substanțelor pectice, iar xilanii însoțesc pretutindeni celuloza, găsindu-se în toate plantele superioare.

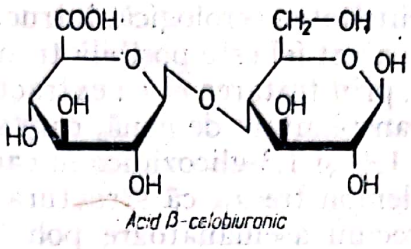
Poliglucide neomogene. Aceste poliglucide sînt constituite din două sau mai multe monoglucide diferite. În plante se află numeroase poliglucide de acest fel și anume: araboxilani, glucofructani, glucomanani, galactoarabani, galactomanani etc.

Poliglucide bacteriene. Poliglucidele bacteriene se află în celulele bacteriilor și sînt specifice fiecărei specii bacteriene. Ele au fost extrase din bacilul gonococ, holeric, meningococ, tific și din diferite alte specii patogene.

Se cunosc numeroase bacterii, care produc în medii de cultură sau în sîngele animalelor poliglucide neomogene ce determină o specificitate imunologică diferitelor bacterii și de aceea sînt denumite și imunopoliglucide. Prin inocularea acestor poliglucide unui animal i se imprimă acestuia imunitate împotriva infecțiilor pe care le produce bacteria respectivă. Capacitatea de imunizare a acestor poliglucide în organismele animale constă în faptul că la introducerea lor în organism apar în serul sanguin unele substanțe capabile de a reacționa cu substanța introdusă. Substanțele apărute în ser la introducerea de poliglucide bacteriene (care au rol de *antigeni* și constau din asociații ale poliglucidelor cu polipeptide sau proteine) se numesc *anticorpi*, care sînt de natură proteidică și apte să lupte împotriva bacteriilor patogene, respectiv să se unească cu poli-

Scanned with OKEN Scanner

glucidele bacteriene. Din acest motiv poliglucidele bacteriene prezintă o deosebită importanţă în imunologie. Odată imunizat organismul, el poate lupta împotriva bacteriilor prin anticorpii formaţi distrugînd, denaturînd sau dezagre-



Acid β-celobiuronic

gînd proteinele bacteriene sau toxinele, prin coagulare (aglutinare) şi prin dezagregare (bacterioliză). În ceea ce priveşte structura poliglucidelor bacteriene este mult asemănătoare mucopoliglucidelor. Construcţia macromoleculei poliglucidice bacteriene este realizată din molecule de acid β-celobiuronic unite prin legături 1,3-glicozidice (fig. 2.6.).

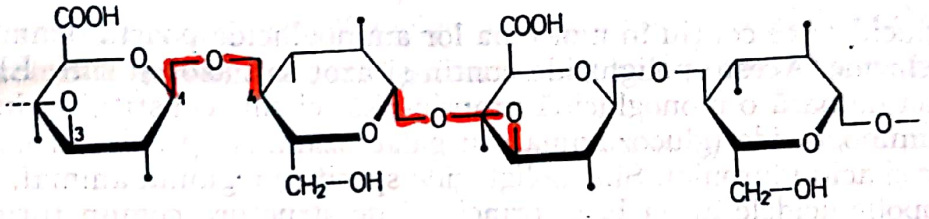


Fig. 2.6. Fragment din molecula unei poliglucide bacteriene.

Printre produşii de hidroliză ai unor poliglucide bacteriene au fost identificate următoarele monoglucide şi derivaţi ai lor: *D*-glucoză, *D*-galactoză, *L*-ramnoză, acizii *D*-glucuronic şi *D*-galacturonic, *N*-glucozamină şi diferite *N*-acetil-hexozamine.

Cercetări relativ recente au scos la iveală faptul că pereţii celulari ai bacteriilor sînt alcătuiţi din compuşi macromoleculari cu structură foarte complexă, a căror componentă de bază este o diglucidă şi anume: acidul N-acetil-glucozamin-1,6-N-acetilmuranic. Poliglucidele de acest fel se numesc *mureine*. Întrucît aceste poliglucide au caracter acid (diglucida de bază are grupare carboxilică liberă), cu aminoacizii formează fragmente scurte de peptide numite *muropeptide*. Mureinele sînt scindate de enzima specifică numită *muramidază*, care se află în secreţii lacrimale, mucozităţile nazale, plasmă sanguină şi în albuş de ou.

Din pereţii celulelor unor bacterii din *G. Subtilis* s-a izolat o mucopoliglucidă formată din acizi teichoici. Aceşti acizi sînt constituiţi din cantităţi echimoleculare de acid glucuronic şi N-acetilgalactozamină legate între ele în mod asemănător acizilor condroitin-sulfurici. Unii dintre componenţii pereţilor celulari ai bacteriilor au o structură mult mai complexă, fiind constituiţi din: glicerol sau ribitol şi acid fosforic, care alcătuiesc o catenă de care se leagă, prin intermediul grupărilor hidroxil, N-acetil-glucozamina şi D-alanină (fig.2.7.).

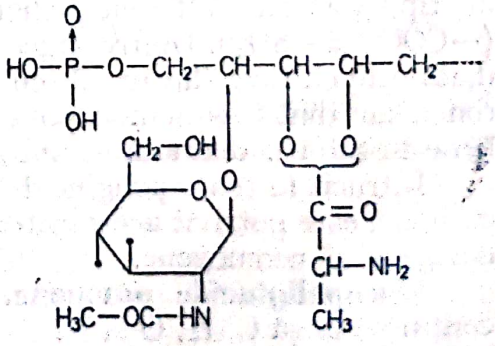


Fig. 2.7. Fragment din structura acidului teichoic din membrana de *Staphylococcus aureus*.

Scanned with OKEN Scanner

Multe celule bacteriene sînt acoperite de o substanţă mucoasă, de natură poliglucidică, unele formate din fragmente de 1,4-glucoz-1,3-acid glucuronic, iar altele din galactoză-1,4-N-acetilglucozamină. Astfel de poliglucide sînt răspunzătoare de specificitatea serologică, întrucît fiecare bacterie produce un anumit poliglucid. În acest fel este posibilă transformarea bacteriilor dintr-un tip (tulpină) în altul, prin tratarea ei cu extract din altă bacterie. Transformarea este de fapt o transplantare de genă, care sub aspect chimic constă în modificarea de legături 1,4- şi 1,3-glicozidice în cadrul poliglucidei.

Faptele menţionate demonstrează că structura poliglucidelor bacteriene este complexă şi sînt oarecum asemănătoare poliglucidelor neomogene, dar conţin şi aminoglucide, ceea ce denotă să sînt situate între cele neomogene şi cele ce conţin aminoglucide.

2.6.2.2. POLIGLUCIDE CE CONŢIN AMINOGLUCIDE

Poliglucidele ce conţin în molecula lor aminoglucide poartă denumirea de mucopoliglucide. Aceste poliglucide conţin şi azot sau azot şi sulf. Ele nu au în molecula de bază o monoglucidă propriu-zisă, ci sînt constituite, în primul rînd din aminoglucide (glucozamină sau galactozamină) şi acizi uronici (acid glucuronic şi acid iduronic). Sînt poliglucide specifice regnului animal.

Mucopoliglucidele au la bază principiul de structură comun tuturor ozidelor. Ele sînt constituite din unităţi de diglucide legate glicozidic în poziţiile 1,4 şi 1,3.

Cele mai multe dintre mucopoliglucide sînt substanţe de structură ale ţesuturilor sau componente ale substanţelor mucoase din organism. Unele dintre mucopoliglucide se găsesc sub formă liberă, dar marea majoritate sînt unite cu proteine, constituind clasa glicoproteidelor. În mucopoliglucide, în general, predomină componenta glucidică, iar în glicoproteidele propriu-zise predomină partea proteică. Se cunosc însă şi mucopoliglucide în care predomină componenta proteică. O delimitare netă a mucopoliglucidelor de glicoproteide este însă dificilă. Totuşi, proporţia mică în proteine şi îndeosebi caracterul labil al mucopoliglucidelor le pot deosebi de glicoproteide. Deosebirea esenţială structurală constă în aceea că în mucopoliglucide „coloana vertebrală" a moleculei o constituie partea glucidică, iar în glicoproteide partea proteică.

Mucopoliglucidele dau soluţii vîscoase şi au un rol important în organismele animale, întrucît îndeplinesc funcţia de cimentare a celulelor ţesutului conjunctiv şi protejează diferitele ţesuturi. Faptul că mucopoliglucidele au proprietatea de a aglutina globulele roşii, conferă specificitate de grup sîngelui animalelor; la om se deosebesc patru grupe sanguine: A, B, AB, 0.

Mucopoliglucidele sînt substanţe destul de heterogene, ceea ce îngreuiază clasificarea lor. Se obişnuieşte să se clasifice după caracterul chimic în: mucopoliglucide neutre şi acide. Pe lîngă aceste două tipuri se distinge şi un alt tip, şi anume sulfomucopoliglucide, care conţin sulf şi au un caracter acid ($-COO^-$ şi $-SO_3^-$). Dintre mucopoliglucidele cu caracter neutru mai bine studiată este chitina, dintre cele cu caracter acid sînt acizii sialici şi acidul hialuronic, iar dintre sulfomucopoliglucide: heparina şi acizii condroitinsulfurici, keratan-sulfaţi, dermatan-sulfaţi şi heparan-sulfaţi.

Întrucît la toate poliglucidele s-a adoptat criteriul structural se consideră că şi aici este potrivit acest criteriu, după care se pot distinge mucopoliglucide omogene şi neomogene.

Mucopoliglucide omogene. Acestea sînt *chitina* şi *acizii sialici*. Ele conţin pe lîngă C, H, O şi N.

Chitina este o mucopoliglucidă cu caracter neutru. Ea intră în constituția carapacei crustaceelor, precum și în tegumentele exterioare ale insectelor, viermilor și moluștelor. În toate cazurile chitina are un rol de susținere mecanică, analog celulozei în plante.

Cu privire la structura chitinei, se știe că ea este formată din resturi de β-*D*-glucozamină acetilată legate 1,4-β-glicozidic. Unitatea care se repetă este diglucida numită chitobioză (fig. 2.8.).

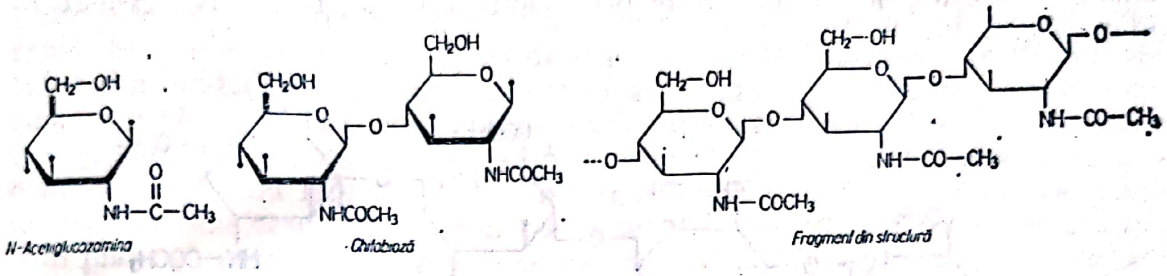


Fig. 2.8. Fragment din molecula chitinei.

Chitina este o substanță insolubilă în apă și hidroxizi alcalini. Prin hidroliză se obține glucozamină și acid acetic.

Acizii sialici sînt mucopoliglucide constituite din resturi de acid neuramic N-acetilat legate prin legături 2,4-β-glicozidice, și au deci caracter acid (fig.2.9.).

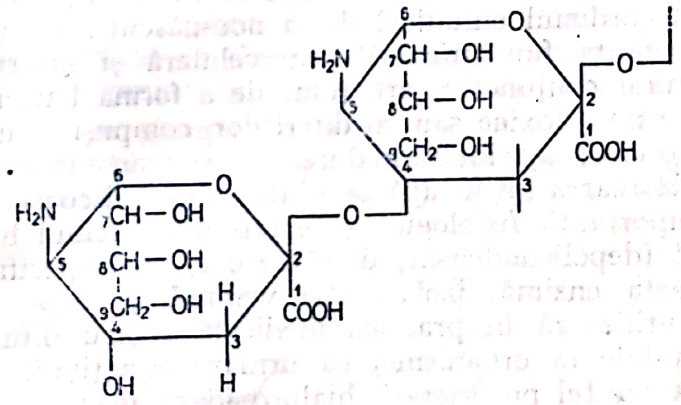


Fig. 2.9. Fragment din structura acizilor sialici.

Intră în constituția glicoproteidelor denumite sialoproteide. În ultimul timp acizilor sialici (produși de policondensare ai acidului neuraminic N-acetilat), respectiv sialoproteidelor li se acordă o atenție din ce în ce mai mare, datorită faptului că ei sînt constituenți ai membranelor celulare și joacă un rol în fixarea și pătrunderea particulelor virale. Membranele formate din acești compuși asigură protecția celulelor față de atacul enzimelor și al noxelor chimice, avînd rol specific de receptori bacteriofagi și antigenici bacterieni. Acești receptori virali pot fi scindați de către enzima neuraminidază (care scindează numai resturile de acid N-acetilneuraminic), izolată din virusul gripei. Prin distrugerea sialoproteidelor de pe suprafața celulelor se favorizează pătrunderea virusurilor în organism. Enzime cu specificități similare neuraminidazei se găsesc și în alte virusuri.

Mucopoliglucidele neomogene. Ele sînt constituite din resturi de acid uronic (glucuronic sau iduronic) și o aminoglucidă N-acetilată sau sulfonată

Scanned with OKEN Scanner

(glucozamină sau galactozamină), legate 1,4-β-glicozidic, constituind o unitate diglucidică de bază. Aceste unități diglucidice se leagă între ele prin legături 1,3-β-glicozidice sau 1,4-β-glicozidice. Cele mai importante mucopoliglucide neomogene sînt: acidul hialuronic, heparina și acizii condroitinsulfurici.

Acidul hialuronic. Este o mucopoliglucidă cu azot, manifestă caracter acid și reprezintă cel mai simplu component din seria mucopoliglucidelor neomogene. Molecula lui este neramificată și alcătuită din resturi de acid glucuronic și N-acetil-glucozamină unite prin legături 1,3-β-, respectiv 1,4-β-glicozidice (fig. 2.10.).

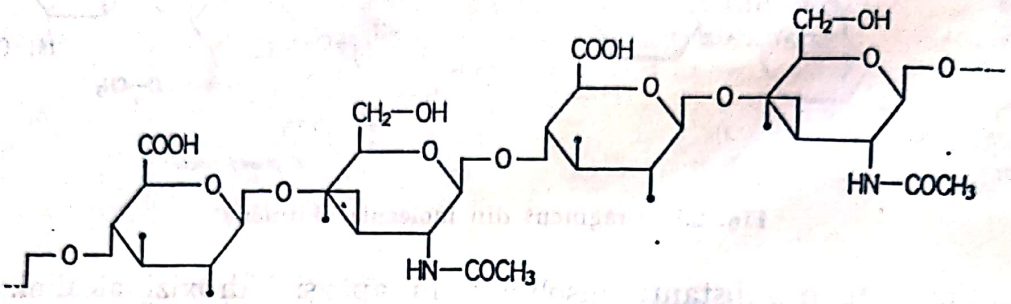


Fig. 2.10. Fragment din molecula acidului hialuronic.

Acidul hialuronic este constituentul principal al țesutului conjunctiv. Se află în cordonul ombilical, piele, corpul vitros din ochi, în cornee, țesuturi canceroase, învelișul ovulului la mamifere, în învelișul unor bacterii etc. El se obține din cordonul ombilical de la nou-născuți. Întrucît acidul hialuronic este substanța fundamentală intercelulară și intertisulară, de cimentare a țesutului conjunctiv, are rolul de a forma bariera contra infiltrațiilor de substanțe toxice sau a diferiților compuși dăunători organismului. Masa moleculară a acidului hialuronic este foarte mare, de mai multe milioane. Prin dizolvarea lui în apă se obțin soluții vîscoase, coloide.

De mare importanță fiziologică este faptul că acidul hialuronic poate fi repede scindat (depolicondensat) de către o enzimă specifică numită hialuronidază. Această enzimă, izolată din veninul de șarpe, din testicule și din bacterii se utilizează în practica medicală pentru difuzarea rapidă a produselor injectabile în organisme, ca urmare a acțiunii ei hidrolizante. Tot ca urmare a acestei proprietăți, hialuronidaza joacă un mare rol fiziologic și în procesul fecundării. Faptul că bacteriile secretă hialuronidază permite pătrunderea lor cu ușurință în țesuturi. În serul sanguin există o antihialuronidază care manifestă acțiune de inhibare a acțiunii de hidroliză a hialuronidazei.

Heparina este o mucopoliglucidă cu masa moleculară relativ mică, de 17 000 — 20 000, constituită din acid glucuronic sulfonat la C-2 și aminoglucoză-N-sulfonată, legate 1,4-α-glicozidic, iar diglucida de bază este legată de asemenea în 1,4-α-glicozidic (fig. 2.11.). Heparina conține atît azot,

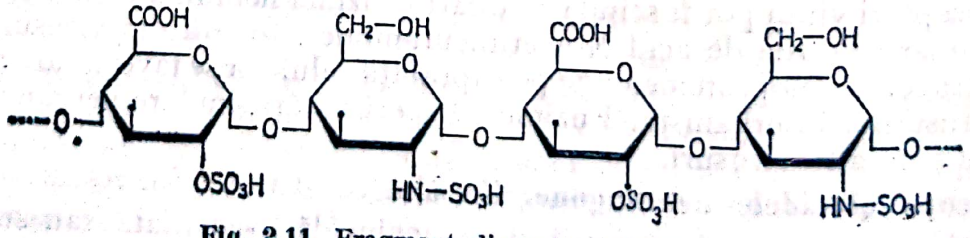


Fig. 2.11. Fragment din molecula heparinei.

cît și sulf. Sulful se află sub formă de sulfat, în proporție destul de ridicată. Prin hidroliza completă a heparinei se obțin următorii produși: acid sulfuric, acid glucuronic, N-acetil-glucozamina și acid iduronic. Acidul glucuronic este un constituent major al heparinei, dar el este însoțit de acid iduronic. Se cunosc mai multe tipuri de heparine. Astfel, α-heparina este constituită din acid *D*-glucuronic sulfonat și aminoglucoză sulfonată, iar β-heparina este alcătuită din acid *D*-glucuronic sulfonat și galactozamină-N-acetilată și sulfonată (restul de acid sulfuric este legat de oxigen). Heparina este o mucopoliglucidă larg răspîndită în organismul mamiferelor fiind secretată de mastocitele țesutului conjunctiv și se află îndeosebi în ficat, în mușchi și în plămîni, organe în care se acumulează și de unde se și izolează. Ea are acțiune anticoagulantă și este utilizată în cazul cînd este necesară o prelungire a timpului de coagulare. Efectul anticoagulant este foarte rapid, dar de durată relativ scurtă. Acțiunea de împiedicare a coagulării sîngelui se bazează pe proprietatea ei de a forma un complex inactiv cu trombokinază (enzimă cu rol biocatalitic în transformarea protrombinei în trombină) și de oprire în acest fel a transformării protrombinei în trombină. Acțiunea anticoagulantă se întîlnește la mulți acizi polisulfonici. Eficiența cea mai bună și cu efect de durată mare s-a constatat la heparinatul de calciu, pentru care motiv se tinde înlocuirea heparinei cu sarea sa de calciu. Prin faptul că o cantitate mare de heparină se găsește în celulele stomacului se crede că aici ea este utilizată de organism pentru neutralizarea aminelor biogene.

Heparin-sulfatul se găsește în dermă și în aortă. În structura sa se află acidul glucuronic și glucozamină acetilată sau sulfonată (fig. 2.12.). Heparin-sulfatul a putut fi pus în evidență în *boala Hurler*.

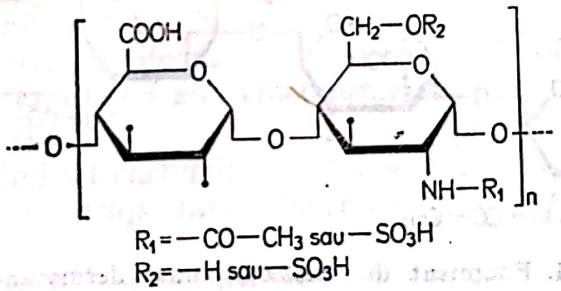


Fig. 2.12. Fragment din molecula heparin-sulfatului.

Condroitine și acizi condroitinsulfurici (condroitinsulfați) sînt mucopoliglucide ce se găsesc în organismul animal în cartilaje, tendoane, pereții arterelor etc., alături de acidul hialuronic. La construcția lor participă acid glucuronic și esteri sulfurici ai N-acetilgalactozaminei care alcătuiesc condroitina (fig. 2.13.), iar condroitinsulfații conțin rest sulfat grefat pe galactozamină-N-acetilată în poziția 4 în cazul condroitin-4-sulfat sau în 6, în cazul condroitin-6-sulfat. În general, tipurile de acizi condroitin-sulfurici sînt grupate în funcție de poziția restului sulfat din N-acetil-galactoză. Toți acizii mucopoliglucidici apar în țesuturi legați covalent de proteine, astfel că există o strînsă legătură structurală între glicoproteide și acizi mucopoliglucidici. Pentru unele mucopoliglucide de acest fel a fost stabilită secvența și legătura dintre glucide și proteine. În general, natura legăturii dintre catena proteică cu cea glucidică este principalul criteriu de deosebire a acizilor mucopoliglucidici, respectiv a glicoproteidelor. Deoarece condroitinusulfații se găsesc, de cele mai multe ori, asociați cu colagen (sub formă de glicoproteide),

Scanned with OKEN Scanner

se pare că rolul lor este să contribuie la dezvoltarea structurii fibrilare a colagenului. Așa se explică și prezența în cantități mari a condromucoproteidelor în cartilaje.

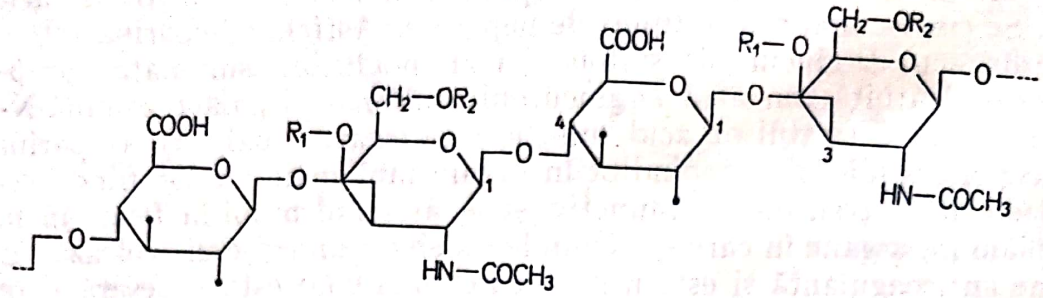


Fig. 2.13. Fragment din molecula — condroitinei:

R_1 și R_2 = H
— condroitin — 4-sulfat: $R_1 = SO_3H$, R_2 = H
— condroitin — 6 sulfat: R_1 = H, $R_2 = SO_3H$

— *Dermatan-sulfatul* a fost pus în evidență în tendoane, ventriculii inimii și în aortă. În structura lui intră acizii uronici, atît acidul iduronic, cît și glucuronic care se află legați 1,3-α-glicozidic de o moleculă de N-acetil-galactozamină sulfonată la C—4. Unitățile diglucidice se leagă prin 1,4-β-galactozamină (fig. 2.14.).

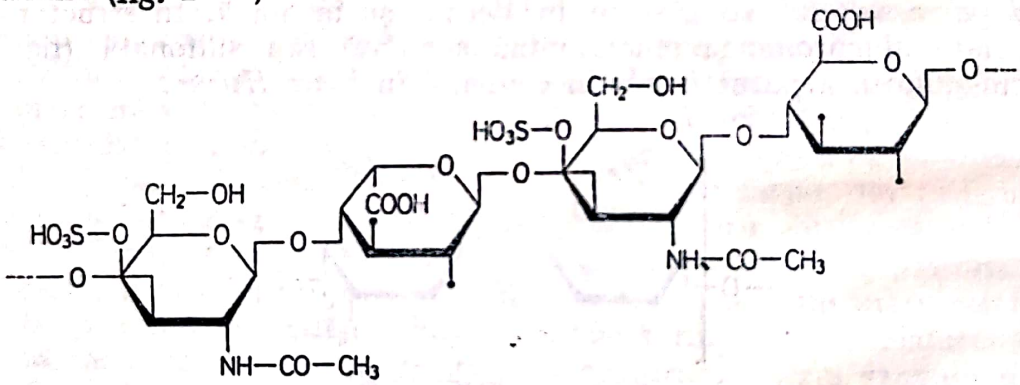


Fig. 2.14. Fragment din molecula unui dermatan-sulfat.

În molecula de dermatan-sulfat există o zonă sensibilă la acțiunea hialuronidazei testiculare și anume acolo unde se află legat acidul glucuronic. În dermatansulfatul izolat din pielea de porc raportul dintre acidul iduronic și cea a acidului glucuronic este de 4 la 1.

—*Keratan-sulfatul* a fost izolat din cornee și din cartilaje. El nu conține acizi uronici în molecula lui. Unitatea diglucidică este N-acetil-golactozamină liberă sau sulfatată la C—4, legată de restul de N-acetilglucozamină-6-sulfat (fig. 2.15.).

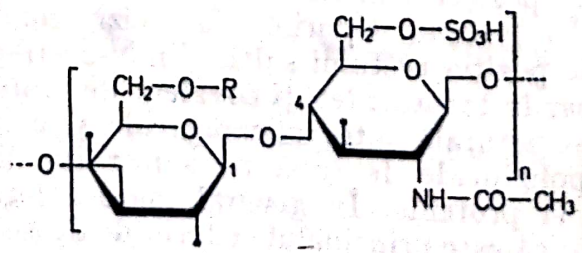


Fig. 2.15. Fragment din molecula unui keratan-sulfat.

2.6.3. HETEROZIDE

Compușii de cuplare, rezultați din componentă de natură glucidică și o altă componentă de altă natură decît glucidică, poartă denumirea de heterozide sau glicozide. Acești compuși se află îndeosebi în regnul vegetal și prezintă proprietăți farmaco-dinamice, fapt pentru care se utilizează în terapeutică. În funcție de structura agliconului se distinge un număr mare de glicozide dintre care mai importante sînt:

— heterozide antrachinonice;

— heterozide heterociclice oxigenate în care agliconul este: cumarină, flavone, flavonoli, antociani;

— heterozide strofantice și digitalice, în care agliconul este de natură steroidică;

— taninuri, în care agliconul este de natură fenolică;

— glucuronide conjugate, în care glucidul este acidul glucuronic, legat de diferiți agliconi, îndeosebi de natură steroidică și multe altele.

2.7. TESTE DE VERIFICARE

1. Glucoza, galactoza și fructoza sînt hexoze. Să se indice:
   — structurile ciclice
   — diferențe de structură
   — forme anomere (α și β)
   — poziția hidroxilului semiacetalic.
2. Reprezentați structurile ciclice ale ribozei și deoxiribozei; încercuiți diferențele de structură și precizați care din acestea intră în structura ARN și care în structura ADN.
3. Să se stabilească structurile ciclice ale următoarelor glucide:
   — gliceroaldehidă
   — α-*D*-glucopiranoză
   — β-ribofuranozo-5-fosfat
   — β-fructofuranoză-1,6-difosfat
   — β-*D*-galactopiranozil-1,4-α-*D*-glucopiranoză
   — α-sedoheptuloză
4. Să se indice un derivat carboxilic al glucozei care intră în structura multor mucopoliglucide și are importanță însemnată în detoxifierea organismului animal.

   Precizați și indicați structura acestui acid.
5. Lactoza și zaharoza sînt diglucide. Să se formuleze reacția de hidroliză a acestora și să se precizeze:
   — denumirea și structura ozelor rezultate;
   — sensul rotației specifice a amestecului de oze rezultat din hidroliza fiecărui diglucid.
6. Să se definească ce este un poliglucid și să se facă o paralelă între structura amidonului și glicogenului, menționînd:
   — asemănările și deosebirile structurale;
   — tipurile de legături stabilite.
7. În legătură cu mucopoliglucidele se cere să se menționeze:
   — exemple de mucopoliglucide cu caracter acid;
   — componentele lor structurale;
   — rolul lor biochimic.

Scanned with OKEN Scanner

3

LIPIDE

3.1. CONSIDERAȚII GENERALE

Lipidele reprezintă o clasă de substanțe organice naturale de răspîndire universală în toate organismele vii și de mare însemnătate biologică. Ele îndeplinesc un rol plastic și energetic, participînd la formarea membranei celulare, la permeabilitatea celulară și la vehicularea diferitelor substanțe indispensabile organismului. Unele lipide se întîlnesc în cantitate mai mare în regnul animal, altele în regnul vegetal. Lipidele din organismele animale provin în cea mai mare parte din hrană, dar organismul are posibilitatea de a-și sintetiza lipide pe seama glucidelor și chiar a protidelor. Termenul de lipide este utilizat din 1925, denumirile mai vechi ale acestei clase erau cele de: materii grase, lipoide, lipoine și lipoze. Denumirea de lipoide este utilizată și astăzi, de obicei pentru a desemna amestecul de lipide și de alte substanțe solubile în lipide.

În organismele vii, lipidele se află adeseori asociate cu proteine sub forma unor compuși mai mult sau mai puțin stabili, denumiți lipoproteide.

Lipidele reprezintă o categorie de substanțe solubile în solvenți organici (cloroform, acetonă, benzen, eter etilic), dar insolubile în apă și în soluții de săruri minerale. Această comportare reprezintă o caracteristică generală a lipidelor și o deosebire de glucide și protide, care sînt insolubile în solvenți organici și solubile în apă.

Lipidele sînt substanțe de rezervă cu valoare calorică superioară glucidelor și joacă deci un rol important în alimentația animalelor, îndeosebi în termogeneza animală. Ele au și rol de susținere pentru unele organe (rinichi) și în menținerea izolării hidrice pentru altele (piele, păr).

3.1.1. CLASIFICAREA GENERALĂ A LIPIDELOR

Întrucît din punct de vedere chimic majoritatea lipidelor sînt esteri, în clasificarea lor se ține seama de structură și apoi de componenta alcoolică.

În funcție de structură se disting două mari grupe de lipide: simple și complexe. Lipidele simple sînt substanțe ternare, formare din C, H și O.

Scanned with OKEN Scanner

Acestea la rîndul lor se împart în funcție de natura alcoolului în: gliceride, steride și ceride. În mod frecvent, în cadrul lipidelor simple sînt incluse și carotinoidele, care nu au decît o singură proprietate comună lipidelor, aceea de a fi solubile în solvenți organici și insolubile în apă.

Lipidele complexe sînt substanțe cel puțin cuaternare, care conțin pe lîngă C, H, O și P sau P și N sau P și S. În această grupă de lipide sînt incluse glicerofosfolipidele și sfingolipidele.

Schema generală a clasificării lipidelor poate fi redată astfel:

- Lipide
  - Lipide simple
    - Gliceride
    - Steride
    - Ceride
  - Lipide complexe
    - Glicerofosfolipide
    - Sfingolipide

Uneori se obișnuiește să se clasifice lipidele după localizarea și rolul lor în organism. Astfel, se disting două grupe: lipide de rezervă sau de depozit și lipide de constituție. În general, lipidele de rezervă sînt gliceride și mai rar steride. Ele se depozitează în organismele animale și vegetale și constituie surse energetice, uneori avînd rol de protecție termică sau mecanică. Lipidele de constituție sînt reprezentate mai ales de lipide complexe, uneori și de steride. Ele participă la constituția celulelor vii și au un rol biochimic și fiziologic deosebit de divers și important.

3.1.2. ROLUL ÎNDEPLINIT DE LIPIDE ÎN ORGANISMELE ANIMALE

Lipidele constituie componente ale membranelor celulare și intervin în reglarea permeabilității și transportului prin biomembrane. Ele îndeplinesc și o funcție energetică pentru organism, aproape cu valoare calorică dublă în comparație cu glucidele și protidele. Lipidele sînt distribuite în toate celulele, dar proporția lor diferă în funcție de specia animală. Astfel, la cabaline se găsesc în proporție de 16,5%, la bovine 17,0%, la ovine 19,2%, iar la suine 23,0%. Multe din produsele animaliere se pot deosebi după natura și cantitatea lipidelor pe care le conțin.

3.1.3. CONSTITUȚIE CHIMICĂ GENERALĂ

Deși lipidele sînt substanțe cu structură variată, ele totuși au o caracteristică comună întrucît majoritatea sînt esteri. La constituția lor participă, în mod obișnuit, un alcool monohidroxilic aciclic sau ciclic sau un poliol și acizi organici saturați sau nesaturați, de o mare varietate. În structura unor lipide se află și alte substanțe, ca: acid fosforic și aminoalcooli. Se cunosc și lipide care nu sînt esteri. Nu la construcția tuturora participă un polialcool.

3.2. ACIZI GRAȘI

Majoritatea acizilor grași izolați din grăsimile naturale sînt acizi monocarboxilici, cu catenă normală, care conțin un număr par de atomi de carbon; în organism se sintetizează din acid acetic activat (cu doi atomi de

Scanned with OKEN Scanner

carbon în moleculă). După natura radicalului hidrocarbonat pot fi clasificați în: acizi grași lineari (saturați și nesaturați), acizi grași lineari cu funcție hidroxil (saturați și nesaturați), acizi grași cu catenă ramificată și acizi grași cu cicluri în catenă.

3.2.1. ACIZI GRAȘI CU CATENĂ LINEARĂ SATURATĂ

Acizii grași cu catenă lineară saturată corespund următoarei formule generale:

$$CH_3 - (CH_2)_n - COOH,$$

în care n are valori între 2 și 30; sînt redați în tabelul 3—1.

Tabelul 3—1

Principalii acizi grași cu catena lineară saturată

Denumirea acidului gras		Numărul atomilor de carbon	Structură	Răspîndirea în natură
Obișnuită	Sistematică			
Butiric	n-butanoic	C_4	$CH_3(CH_2)_2COOH$	Unt
Caproic	n-hexanoic	C_6	$CH_3(CH_2)_4COOH$	Unt, grăsime de coprah
Caprilic	n-octanoic	C_8	$CH_3(CH_2)_6COOH$	Unt, grăsime de coprah, ulei de cașalot
Caprinic	n-decanoic	C_{10}	$CH_3(CH_2)_8COOH$	Grăsime de coprah, ulei de cașalot
Lauric	n-dodecanoic	C_{12}	$CH_3(CH_2)_{10}COOH$	Unt de laur, grăsime de coprah și palmier
Miristic	n-tetradecanoic	C_{14}	$CH_3(CH_2)_{12}COOH$	Majoritatea grăsimilor naturale
Palmitic	n-hexadecanoic	C_{16}	$CH_3(CH_2)_{14}COOH$	Majoritatea grăsimilor naturale, în special de palmier
Stearic	n-octadecanoic	C_{18}	$CH_3(CH_2)_{16}COOH$	Majoritatea grăsimilor animale
Arachic	n-eicosanoic	C_{20}	$CH_3(CH_2)_{18}COOH$	Ulei de arahide
Behenic	n-docosanoic	C_{22}	$CH_3(CH_2)_{20}COOH$	Ulei de colza și de muștar
Lignoceric	n-tetracosanoic	C_{24}	$CH_3(CH_2)_{22}COOH$	Sfingomielină, cerebrozide, ulei de arahide
Cerotic	n-hexacosanoic	C_{26}	$CH_3(CH_2)_{24}COOH$	Ceride
Montanic	n-octocosanoic	C_{28}	$CH_3(CH_2)_{26}COOH$	Ceride
Melisic	n-triacontanoic	C_{30}	$CH_3(CH_2)_{28}COOH$	Ceride
Laceroic	n-dotriacontanoic	C_{32}	$CH_3(CH_2)_{30}COOH$	Ceride

Toți acizii grași cu catenă neramificată sînt solizi la temperatura camerei; excepție fac acizii butiric, caproic și caprilic, care sînt lichizi.

Dintre acești acizi grași cei mai răspîndiți sînt acizii palmitic și stearic; acidul palmitic formează aproximativ 15—50% din totalul acizilor grași din grăsimile animale. În lipidele erbivorelor pe lîngă acești doi acizi grași se găsesc toți ceilalți acizi grași, care conțin de la 4 atomi de C pînă la 18 atomi de C, dar într-o proporție diferită și mai mică.

Scanned with OKEN Scanner

3.2.2. ACIZI GRAŞI NESATURAŢI

Acizii graşi lineari nesaturaţi sînt acizi monocarboxilici, care conţin în moleculă una sau mai multe duble legături. Aceşti acizi diferă între ei prin lungimea lanţului hidrocarbonat şi prin numărul şi poziţia dublelor legături. Ei pot fi simbolizaţi printr-o notare care indică numărul atomilor de carbon din lanţ, poziţia şi conformaţia dublelor legături. De exemplu: acidul oleic (18 atomi de carbon şi o dublă legătură cis între carbonii 9 şi 10) este simbolizat $18.1^{\Delta 9}$, în care 18 indică numărul atomilor de carbon, 1 — o dublă legătură, 9 — locul dublei legături. Majoritatea acizilor graşi nesaturaţi naturali au configuraţia cis. În tabelul 3—2 sînt redaţi principalii acizi graşi nesaturaţi.

Rolul acizilor graşi nesaturaţi în organism. Acizii graşi cu două sau mai multe duble legături în moleculă îndeplinesc un rol foarte important în nutriţia animalelor; unii dintre ei nu pot fi sintetizaţi de organismul animal în cantitate suficientă pentru acoperirea necesităţilor. Cei mai importanţi din acest punct de vedere sînt acizii cic-cis-linoleic, linolenic şi arachidonic, care au fost denumiţi şi acizi graşi esenţiali (A.G.E.). În ţesuturile animalelor în cantitate mai mare se găseşte acidul linoleic; reprezintă 10—20% din acizii graşi din trigliceride şi fosfogliceride. Acizii linoleic şi linolenic sînt sintetizaţi în plante. Acidul arachidonic este biosintetizat de organismul animal, în special de către erbivore, din cei doi acizi graşi esenţiali; deci o carenţă în acid linoleic şi linolenic duce nemijlocit şi la o carenţă în acid arachidonic. În organismul animal acidul arachidonic se găseşte în cantităţi însemnate în: fosfatidele din creier, ficat, sînge şi în grăsimile de rezervă ale bovinelor şi porcinelor. A.G.E. participă la formarea membranelor celulare, la metabolismul mitocondrial, intră în structura fosfolipidelor, sînt precursori ai prostaglandinelor. Acidul linolenic, linoleic şi arachidonic (cunoscuţi şi sub denumirea de vitamină F, denumire care nu a fost acceptată), stimulează procesele de creştere la mamifere, previn apariţia dermatitelor; participă, de asemenea, la menţinerea unei concentraţii normale a colesterolului în sînge. Carenţa în aceşti acizi duce la oprirea creşterii, la o perturbare a proceselor de ovulaţie, determină o fragilitate a capilarelor etc.

3.2.3. HIDROXIACIZI

Acizii graşi hidroxilici, ca şi ceilalţi acizi graşi, prezintă o catenă saturată sau nesaturată şi o funcţiune hidroxil în plus. Principalii hidroxiacizi sînt prezentaţi în tabelul 3—3.

3.2.4. ACIZI GRAŞI CU CATENĂ RAMIFICATĂ

Aceşti acizi se găsesc în structura unor lipide speciale; unii au fost extraşi din lipidele unor bacili, cum este bacilul Koch şi din unele bacterii acidorezistente. Se găsesc atît în regnul vegetal, cît şi în regnul animal, în special în lipidele rumegătoarelor, în usucul lînii oilor (în lanolină) etc. O serie de acizi graşi ramificaţi derivă din metabolismul proteinelor, din catabolismul unor aminoacizi. În tabelul 3—4 sînt redaţi principalii acizi graşi cu catenă ramificată.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 3—2

Principalii acizi graşi cu una sau mai multe duble legături

Denumirea acidului gras			Structură	Răspîndirea în natură
Simbol	Obişnuită	Sistematică		
10. $1^{\Delta 9}$	Caproleic	9-decenoic	$CH_2^{10}=CH^{9}-(CH_2)_7-COOH$	Unt, ulei cașalot
12. $1^{\Delta 9}$	Lauroleic	9-dodecenoic	$CH_3-CH_2-CH=CH^{9}-(CH_2)_7-COOH$	Lapte de capră
14. $1^{\Delta 9}$	Miristoleic	9-tetradecenoic	$CH_3-(CH_2)_3-CH=CH^{9}-(CH_2)_7-COOH$	Ulei de balenă
16. $1^{\Delta 9}$	Palmitoleic	9-hexadecenoic	$CH_3-(CH_2)_5-CH=CH^{9}-(CH_2)_7-COOH$	Grăsimi animale
18. $1^{\Delta 9}$	Oleic	cis-9-octadecenoic	$CH_3-(CH_2)_7-CH=CH^{9}-(CH_2)_7-COOH$	Majoritatea lipidelor
18. $1^{\Delta 11}$	Vaccenic	11-octadecenoic	$CH_3-(CH_2)_5-CH=CH^{11}-(CH_2)_9-COOH$	Unt, grăsime de berbec
22. $1^{\Delta 13}$	Erucic	13-docosenoic	$CH_3-(CH_2)_7-CH=CH^{13}-(CH_2)_{11}-COOH$	Ulei de conifere
24. $1^{\Delta 15}$	Nervonic	15-tetracosenoic	$CH_3-(CH_2)_7-CH=CH^{15}-(CH_2)_{13}-COOH$	Cerebrozide, ulei de pești
18.2$^{\Delta 9,12}$	Linoleic	cis, cis, 9; 12-octadecadienoic	$CH_3-(CH_2)_4CH=CH^{12}-CH_2-CH=CH-(CH_2)_7-COOH$	Aproape toate lipidele
18.3$^{\Delta 9, 12, 15}$	Linolenic	9;12;15-octadecatrienoic	$CH_3-CH_2-CH=CH^{15}-CH_2-CH=CH^{12}-CH_2-CH=CH^{9}-(CH_2)_7-COOH$	Ulei de in
20.4$^{\Delta 5, 8, 11, 14}$	Arachidonic	5;8;11;14-eicosatetraenoic	$CH_3-(CH_2)_4-CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH-(CH_2)_3-COOH$	Fosfolipide
22.5$^{\Delta 4, 8, 12, 15, 19}$	Clupanodonic	4;8;12;15;19-decosapentaenoic	$CH_3-CH_2-CH=CH-(CH_2)_2-CH=CH-CH_2-CH=CH-(CH_2)_2-CH=CH-(CH_2)_2-CH=CH-(CH_2)_2-COOH$	Ulei de pești

Scanned with OKEN Scanner

Principalii hidroxiacizi graşi *Tabelul 3—3*

Denumirea		Structură	Răspîndirea
Obişnuită	Sistematică		
α-Hidroxi-miristic	2-Hidroxitetra-decanoic	$CH_3-(CH_2)_{11}-CH(OH)-COOH$	Lanolină
α-Hidroxi-palmitic	2-Hidroxi-hexadecanoic	$CH_3-(CH_2)_{13}-CH(OH)-COOH$	Lanolină
α-Hidroxi-arachic	2-Hidroxi-eicosanoic	$CH_3-(CH_2)_{17}-CH(OH)-COOH$	Lanolină
α-Hidroxi-lignoceric	2-Hidroxi tetracosanoic	$CH_3-(CH_2)_{21}-CH(OH)-COOH$	Cerebro-zide
α-Hidroxi-nervonic	2-Hidroxi-15-tetracosanoic	$CH_3-(CH_2)_7-CH=CH-(CH_2)_{12}-CH(OH)-COOH$	Cerebro-zide
Ricinoleic sau 12 hidroxioleic	12-Hidroxi-9-octadecanoic	$CH_3-(CH_2)_5-CH(OH)-CH_2-CH=CH-(CH_2)_7-COOH$	Ulei de ricin

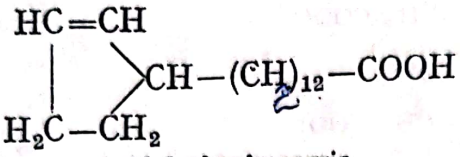
Acizii graşi cu catenă ramificată *Tabelul 3—4*

Denumirea acidului	Structură	Răspîndirea în natură
Acidul izobutiric	$(CH_3)_2CH-COOH$	Produs intermediar al metabolismului valinei şi degradării enzimatice a proteinelor. Se găseşte în stare liberă în *Ceratonia lingua*, iar sub formă de ester şi în fecale.
Acidul izovalerianic	$(CH_3)_2CH-CH_2-COOH$	Produsul intermediar al metabolismului leucinei şi degradării microbiene a proteinelor. Se găseşte în stare liberă în uleiurile volatile, frunzele de tutun şi rădăcinile de valeriană.
Acidul izomiristic	$(CH_3)_2CH-(CH_2)_{10}-COOH$	Se găseşte sub formă esterificată în lanolină.
Acidul tuberculostearic	$CH_3-(CH_2)_7-CH(CH_3)-(CH_2)_8-COOH$	În stare liberă în lipidele bacilului tuberculozei şi în *Mycobacterium leprae*.
Acidul fitanic	$CH_3-[CH(CH_3)-(CH_2)_3]_3-CH(CH_3)-(CH_2)_3-COOH$	Urme se găsesc în grăsimile animale, în serul sanguin şi în untul de vacă.
Acidul micolipenic	$CH_3-(CH_2)_{17}-CH(CH_3)-CH_2-CH(CH_3)-CH=C(CH_3)-COOH$	Acid în stare liberă în bacilul tuberculozei.
Acidul micoceramic	$CH_3-(CH_2)_{22}-CH(CH_3)-CH_2-CH(CH_3)-CH_2-CH(CH_3)-COOH$	Se găseşte împreună cu acidul micolipenic şi tuberculostearic în bacilul tuberculozei.

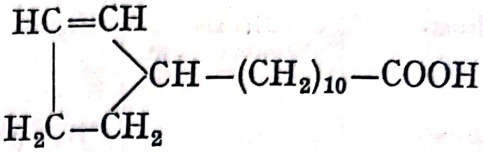
Scanned with OKEN Scanner

3.2.5. ACIZI GRAŞI NESATURAŢI CU CICLURI ÎN MOLECULĂ

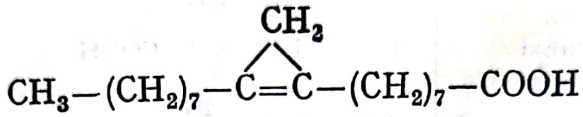
Se întîlnesc în constituţia uleiurilor plantelor din familia *Flacourtiaceae*. Mai des întîlniţi sînt acidul chaulmoogric, hidnocarpic şi sterculic cu următoarea structură:



Acidul chaulmoogric



Acidul hidnocarpic



Acidul sterculic

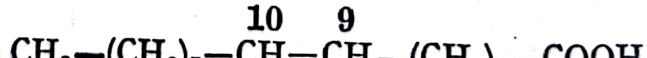
Deşi în organism se găsesc în majoritate acizi graşi cu număr par de atomi de carbon, în constituţia unor lipide provenite de la bacterii, animale marine şi chiar în unt intră şi acizi graşi, saturaţi şi nesaturaţi, cu număr impar de atomi de carbon. Astfel în untul de vacă se găsesc acizi cu 13,15 şi 17 atomi de carbon; în lipidele de pe păr se găsesc esterificaţi în jur de 30 de acizi graşi cu număr impar de atomi de carbon.

3.2.6. PROPRIETĂŢI FIZICE ŞI CHIMICE ALE ACIZILOR GRAŞI

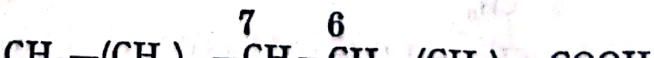
Proprietăţi fizice. Acizii graşi în majoritate sînt substanţe solide. Din clasa acizilor graşi saturaţi primii trei termeni sînt lichizi, restul solizi. Temperaturile de topire şi de fierbere cresc în concordanţă cu creşterea masei moleculare. În general acizii graşi au temperaturi de fierbere foarte ridicate şi din această cauză nu pot fi distilaţi decît la presiuni scăzute, deoarece se descompun. Termenii inferiori sînt solubili în apă; începînd cu acidul lauric sînt practic insolubili în apă şi solubili în solvenţi organici. Izomerii cis ai acizilor nesaturaţi sînt mai solubili decît acizii saturaţi corespunzători.

Izomeria acizilor graşi. La acizii graşi se întîlnesc următoarele forme de izomerie: izomeria de poziţie, stereoizomeria geometrică (cis-trans) şi stereoizomeria optică.

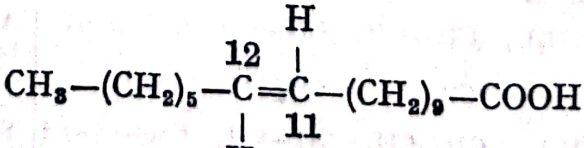
— *Izomeria de poziţie datorată dublei legături din moleculă.* În structura unor lipide naturale au fost identificaţi trei izomeri de poziţie ai acidului oleic, care diferă între ei prin poziţia dublei legături:



Acid oleic



Acid petroselic



Acid vacenic (trans)

Izomeri de poziție se întîlnesc și la acizii grași care conțin trei duble legături în moleculă:

$$CH_3-CH_2-\overset{15}{CH}=\overset{}{CH}-CH_2-\overset{12}{CH}=\overset{}{CH}-CH_2-\overset{9}{CH}=\overset{}{CH}-(CH_2)_7-COOH$$

Acidul linolenic

$$CH_3-(CH_2)_3-\overset{13}{CH}=\overset{}{CH}-CH=\overset{11}{CH}-CH=\overset{9}{CH}-(CH_2)_7-COOH$$

Acidul eleostearic

— *Izomerie de poziție datorată diferitelor grupări funcționale din moleculă*; spre exemplu:

$$CH_3-\overset{\beta}{CH_2}-\overset{\alpha}{CH}(OH)-COOH$$

Acid α-hidroxibutiric

$$CH_3-\overset{\beta}{CH}(OH)-\overset{\alpha}{CH_2}-COOH$$

Acid β-hidroxibutiric

— *Izomeria geometrică (cis-trans)* este întîlnită la acizii grași nesaturați liniari. Spre exemplu:

$$\begin{matrix} H-C-(CH_2)_7-CH_3 \\ \| \\ H-C-(CH_2)_7-COOH \end{matrix}$$

Acidul oleic (cis)

$$\begin{matrix} H_3C-(H_2C)_7-C-H \\ \| \\ H-C-(CH_2)_7-COOH \end{matrix}$$

Acidul elaidic (trans)

Acești doi izomeri geometrici se deosebesc între ei prin orientarea diferită în spațiu a atomilor și radicalilor față de dubla legătură.

— *Izomeria optică* se datorește existenței în molecula unor acizi grași a unuia sau a mai multor atomi de carbon asimetrici; este mai rar întîlnită. Prezintă izomerie optică: acidul chaulmoogric, hidnocarpic și ricinoleic.

Proprietăți chimice. Acizii grași prezintă toate proprietățile chimice ale acizilor organici de acest tip; astfel cu alcoolii formează esteri, cu metalele alcaline săruri (săpunuri) etc. Acizii grași nesaturați, datorită dublelor legături din moleculă, dau reacții de adiție. În prezența ozonului și a oxigenului din atmosferă se oxidează.

Formarea esterilor are loc după următoarea reacție:

$$R-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-OH + R_1-OH \longrightarrow R-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O-R_1 + H_2O$$

Formarea sărurilor. Acizii grași reacționează cu hidroxizii metalelor formînd săruri numite și săpunuri, conform reacției:

$$R-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-OH + NaOH \longrightarrow R-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-O\,Na + H_2O$$

Sărurile metalelor alcaline sînt solubile în apă, ale celorlalte metale insolubile. Sărurile metalelor alcaline cu apa suferă fenomenul de hidroliză, iar soluția coloidală care se formează are caracter bazic. Soluțiile săpunurilor cu apa spumează și sînt utilizate în scopuri igienice.

Reacții de adiție. Acizii grași nesaturați adiționează halogenii la nivelul dublei legături, formînd derivații halogenați respectivi:

$$R-(CH_2)_n-CH=CH-(CH_2)_n-COOH + Br_2 \rightleftharpoons$$
$$\rightleftharpoons R-(CH_2)_n-CHBr-CHBr-(CH_2)_n-COOH$$

Procesul de saturare este reversibil; viteza de reacție depinde de lumină, temperatură, excesul de halogen, natura solventului și locul dublei legături în molecula acidului nesaturat. În cazul acizilor polinesaturați reacția decurge treptat; la început se saturează dubla legătură cea mai depărtată de funcțiunea carboxil, apoi dubla legătură vecină acesteia și procesul continuă pînă la saturarea completă.

Reacția de adiție decurge după același mecanism dacă se intervine cu Cl_2, BrI sau ClI, care sînt la fel de reactivi în cazul acizilor grași liberi și a lipidelor care conțin acizi grași nesaturați în moleculă. Iodul este mai puțin reactiv. Acizii grași nesaturați pot fi și hidrogenați, în prezența hidrogenului molecular, prin participarea la reacție a unor catalizatori (platină, paladiu, nichel).

Oxidarea acizilor grași. Acizii grași și în special cei nesaturați reacționează cu ozonul sau oxigenul formînd compuși ciclici (ozonide), care în prezența hidrogenului și a apei se transformă în acizi și aldehide acizi; aceste transformări stau la baza procesului cunoscut și sub denumirea de rîncezirea grăsimilor:

$$CH_3-(CH_2)_5-CH=CH-(CH_2)_7-COOH + O_3 \longrightarrow$$

$$\longrightarrow CH_3-(CH_2)_5-\underset{O}{CH}\ \underset{O}{CH}-(CH_2)_7-COOH \longrightarrow$$

ozonidă

$$\longrightarrow CH_3-(CH_2)_5-C(=O)H + HOOC-(CH_2)_7-COOH$$

$$\longrightarrow CH_3-(CH_2)_7-COOH + HC(=O)-(CH_2)_5-COOH$$

3.3. LIPIDE SIMPLE

Lipidele simple sînt substanțe organice ternare în compoziția cărora intră C, H și O. Din punct de vedere chimic sînt esteri ai acizilor grași cu diferiți alcooli. Clasificarea lor se face după natura alcoolului cu care se esterifică acizii grași. Din această grupă fac parte: acilglicerolii (gliceridele), steridele, ceridele și etolidele.

Scanned with OKEN Scanner

3.3.1. ACILGLICEROLI (GLICERIDE SAU GRĂSIMI NEUTRE)

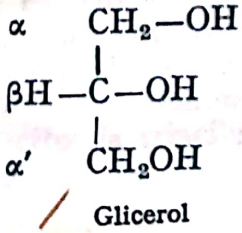
3.3.1.1. CARACTERIZARE GENERALĂ ŞI STRUCTURĂ

Acilglicerolii sînt esteri ai acizilor graşi cu glicerolul (propantriol). Timp destul de îndelungat aceste lipide au fost denumite gliceride (grăsimi). Comisia internaţională pentru nomenclatură a recomandat ca acest termen să nu mai fie utilizat, deoarece nu corespunde din punct de vedere chimic, urmînd a fi înlocuit cu termenul de acilgliceroli.

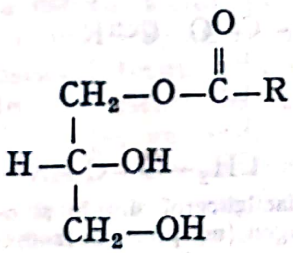
Triacilglicerolii (trigliceridele) sînt cele mai răspîndite lipide simple; intră în componenţa tuturor celulelor animale şi vegetale şi au un rol important biochimic şi fiziologic. Ele constituie forma de depozit a lipidelor atît la animale cît şi la plante.

Structura şi izomeria acilglicerolilor. În funcţie de numărul grupărilor hidroxil esterificate din molecula glicerolului, se pot forma monoacilgliceroli (monogliceride), diacilgliceroli (digliceride) şi triacilgliceroli (trigliceride). În cazul cînd esterificarea are loc cu acelaşi acid gras se numesc *gliceride simple*, iar cînd esterificarea se face cu doi sau trei acizi graşi diferiţi se numesc *gliceride mixte.*

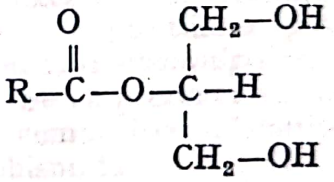
Monoacilglicerolii sînt esteri ai glicerolului în care o singură funcţiune hidroxil a fost esterificată cu un acid gras. Se disting doi izomeri de poziţie, α şi β (1 şi 2), în cazul cînd esterificarea se realizează cu acelaşi acid gras:



Glicerol



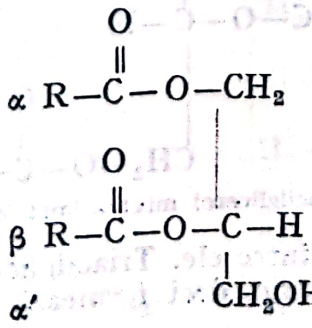
α-Monoacilglicerol



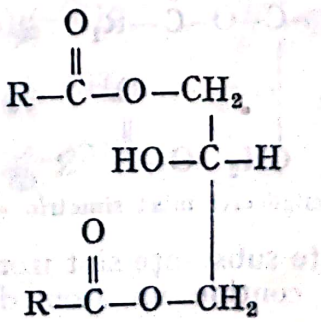
β-Monoacilglicerol

La α-monoacilglicerol atomul de carbon β este asimetric, deci există doi enantiomeri. Lipidele naturale, simple şi complexe, car- provin de la glicerol şi care conţin atomi de carbon asimetrici în moleculă, fac parte din seria sterică L.

Diacilglicerolii conţin în moleculă două legături esterice. Cei doi hidroxili ai glicerolului pot fi esterificaţi cu acelaşi acid gras sau cu doi acizi graşi diferiţi:



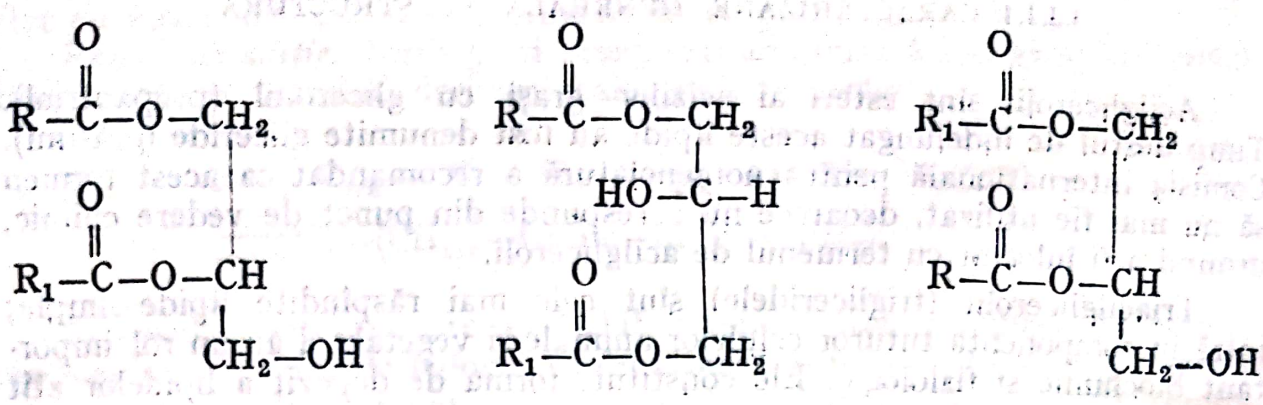
α-β-Diacilglicerol asimetric



α-α'-Diacilglicerol simetric

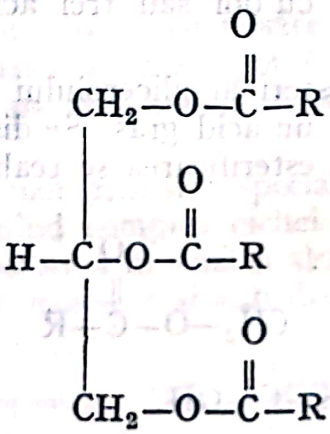
Cei doi diacilgliceroli sînt izomeri între ei; primul conține un atom de carbon asimetric în moleculă.

În cazul diacilglicerolilor micşti sînt posibili trei izomeri:



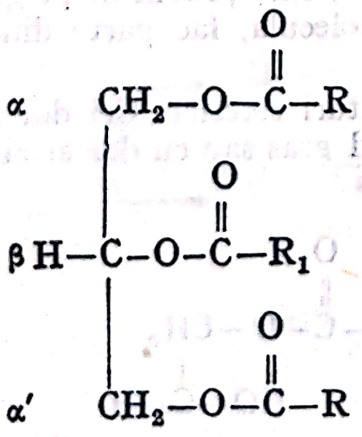
Prezența în aceeași moleculă a unor acizi grași diferiți mărește numărul de izomeri de poziție și al izomerilor optici.

Triacilglicerolii sînt esteri ai glicerolului în care toate cele trei funcțiuni hidroxil sînt esterificate cu acizi grași. Cînd cele trei funcțiuni —OH sînt esterificate cu același acid gras se obțin triacilgliceroli omogeni de forma:

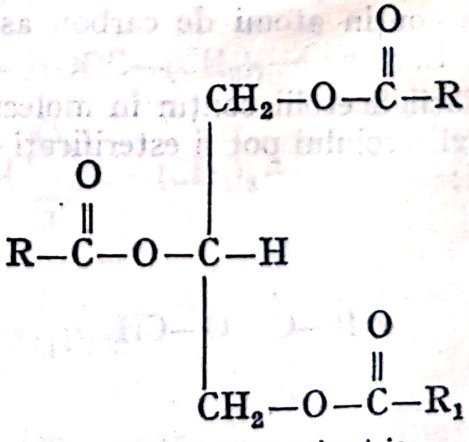


Triacilglicerol simplu și omogen (nu prezintă izomerie de poziție)

Cînd esterificarea are loc cu doi acizi grași identici și unul diferit se obțin triacilgliceroli de forma :



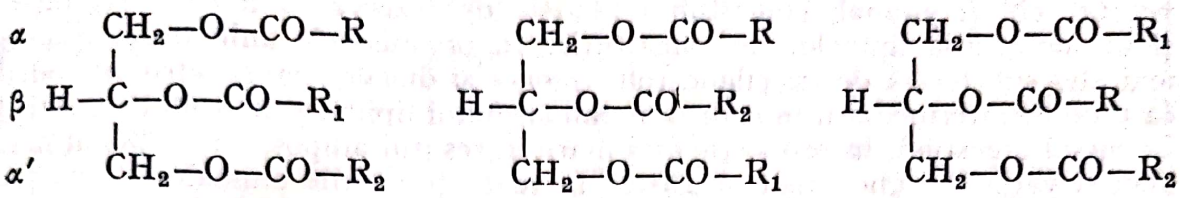
Triacilglicerol mixt simetric



Triacilglicerol mixt asimetric

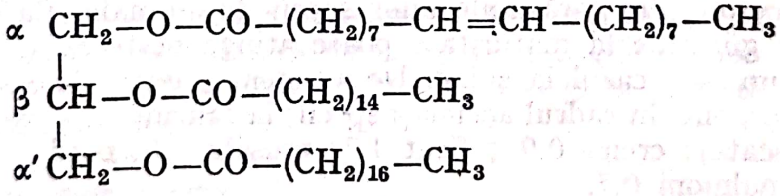
Aceste substanțe sînt izomeri de poziție între ele. Triacilglicerolul mixt asimetric conține un atom de carbon asimetric, deci formează doi enantiomeri.

Triacilglicerolii care conțin în moleculă trei acizi grași diferiți prezintă următorii izomeri de poziție:

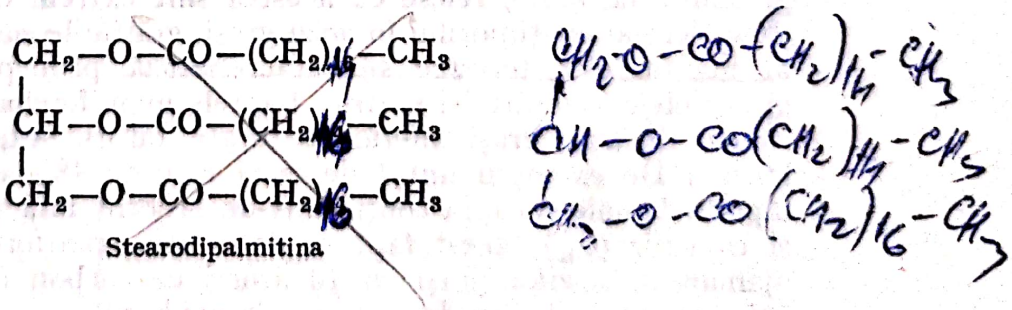


Toate aceste substanțe conțin în moleculă atomi de carbon asimetrici, deci prezintă izomerie optică. Numărul izomerilor optici crește dacă și în restul hidrocarbonat (R) al acizilor grași există atomi de carbon asimetrici. Numărul triacilglicerolilor care se pot forma este foarte mare, ținînd cont de natura diferită a radicalilor R care pot intra în molecula triacilglicerolilor. Numărul posibil de trigliceride diferite ca structură care se pot forma, de exemplu cu cinci acizi grași diferiți, este de 75; cu opt acizi grași diferiți, de 288 etc.

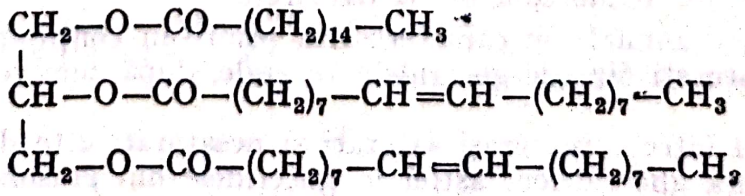
Denumirea acilglicerolilor se formează ținînd seama de acizii grași din structura lor și de poziția acestora. Comisiile internaționale de nomenclatură în biochimie (IUB, IUPAC), în 1979, au recomandat ca pentru resturile de acizi esterificați să se folosească terminația -oil-. De exemplu un triacilglicerol, care conține în moleculă resturi de acid palmitic în pozițiile α, β și rest de acid stearic în poziția α' se va numi α, β-*palmitoil*-α'-*stearoilglicerol*; după vechea denumire corespunde cu *stearodipalmitina*. Se va prezenta structura cîtorva triacilgliceroli, care intră mai frecvent în compoziția grăsimilor de rezervă la cîteva specii de animale cu denumirea obișnuită:



Oleopalmitostearina



Stearodipalmitina



Palmitodioleina

3.3.1.2. RĂSPÎNDIRE ÎN NATURĂ

Acilglicerolii (gliceridele) sau grăsimile neutre se găsesc atît în regnul vegetal cît și animal, constituind lipidele de rezervă; o mică parte intră și în compoziția lipidelor de constituție. În organismele animale se găsesc mai ales sub formă de triacilgliceroli (mono- și diacilglicerolii apar mai ales ca produși intermediari, în cadrul metabolismului lipidic și în tubul digestiv, în cursul digestiei), în proporție mai mare în țesutul adipos. În proporții mai mici și variabile, gliceridele se găsesc în toate țesuturile animale. Proporția lor variază de la specie la specie și în cadrul aceleiași specii, în funcție de vîrstă și de condițiile de întreținere. În tabelul 3—5 este redată proporția

Tabelul 3—5

Proporția de triacilgliceroli în grăsimile unor specii animale (în %)

Triacilgliceroli	Specia		
	Taurine	Ovine	Suine
Tripalmitină	3	—	Urme
Dipalmitostearină	8	3	2
Palmitodistearină	6	2	Urme
Oleodipalmitină	15	13	Urme
Oleopalmitostearină	32	28	11
Oleodistearină	2	1	2
Palmitodioleină	23	46	82
Stearodioleină	11	7	1
Trioleină	—	—	Urme

în triacilgliceroli din grăsimile unor specii de animale. La unele specii proporția de gliceride la maturitate poate atinge peste 50% din greutatea corporală, cum este cazul la suine. De asemenea, gliceridele sînt diferit repartizate pe organe, în cadrul aceleiași specii; la taurine spre exemplu (% din substanța uscată): creier 0,9 ; ficat 1,7; mușchi 1,6; cord 1,4; splină 1,6; rinichi 1,4; pulmoni 0,7.

Observîndu-se componența triacilglicerolilor din care sînt constituite grăsimile naturale, reiese că acestea sînt extrem de heterogene. Din punct de vedere al conținutului în acizi grași, grăsimile naturale din țesutul adipos al mamiferelor terestre se caracterizează prin prezența următorilor acizi grași: oleic, palmitic și stearic. Laptele mamiferelor conține însă un procent ridicat de acizi grași inferiori saturați (butiric, caproic, caprilic, caprinic și lauric.) De exemplu untul de vacă conține 4% acid butiric, grăsimile din laptele de oaie și capră conțin într-un procent mai ridicat acid caprilic (C_8) și caprinic (C_{10}); acest fapt se datorește transformării la nivelul glandei mamare a acizilor grași cu 18 atomi de carbon în acizi saturați inferiori, prin procese de oxidoreducere (β-oxidare).

Gliceridele animale se caracterizează printr-un conținut mai ridicat în acizi grași saturați față de gliceridele vegetale, după cum reiese din tabelul 3—6.

Raportul între acizii grași saturați și nesaturați este diferit în funcție de proveniența gliceridelor; astfel în gliceridele din grăsimea de porc este de 38/62, în unt 60/40, în diferite uleiuri 10/80 etc.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 3—6

Proporțiile principalilor acizi grași din unele gliceride animale și vegetale (% din totalul acizilor grași)

Sursa de gliceride (acilgliceroli)	Miristic	Palmitic	Stearic	Arachic	Palmitoleic	Oleic	Linoleic	Linelenic
Grăsime de găină	0,1	25,6	7,0	—	7,0	38,4	21,3	—
Grăsime de porc	1,7	25,5	13,7	—	—	50,2	8,9	—
Seu de oaie	4,6	24,6	30,5	—	—	36,0	4,3	—
Seu de bou	3,3	24,9	24,1	—	2,4	41,3	1,8	—
Ulei de floarea-soarelui	—	3,5	2,9	0,6	—	34,1	58,5	—
Ulei de in	—	5,4	3,5	0,6	—	9,6	42,6	38,1
Ulei de bumbac	—	29,9	1,9	0,1	—	30,7	45,0	—
Ulei de arahide[1]	—	8,3	3,1	2,4	—	56,0	26,0	5,0

[1] în l. greacă — arachide

Acilglicerolii animalelor acvatice au o compoziție diferită și mai complexă decît a mamiferelor și plantelor și se caracterizează printr-un conținut ridicat în acizi grași superiori nesaturați, cu un număr de atomi de carbon care variază de la C_{16} pînă la C_{22}. Principalul acid gras saturat esterificat este acidul palmitic, care constituie 10—18% din totalul acizilor grași; dintre acizii nesaturați acidul palmitoleic reprezintă 15—20%.

3.3.1.3. PROPRIETĂȚI FIZICE ȘI CHIMICE ALE TRIACILGLICEROLILOR

Proprietățile fizice ale acilglicerolilor (gliceride) naturali sînt dependente de natura acizilor grași constituenți, deci de gradul de saturare și de masa moleculară.

Gliceridele sînt insolubile în apă și solubile în hidrocarburi, derivații halogenați ai hidrocarburilor, eter etilic, acetonă; sînt mai puțin solubile în alcooli inferiori. În stare pură sînt incolore; la temperaturi scăzute se pot obține în stare cristalizată. Starea de agregare a trigliceridelor depinde de compoziția lor în acizi grași: cele bogate în acizi grași saturați inferiori și în acizi nesaturați sînt lichide; cu cît conținutul în acizi grași saturați superiori crește, punctul de topire al trigliceridelor este mai ridicat. În tabelul 3—7 sînt prezentate temperaturile de topire ale unor gliceride din grăsimile naturale. Deoarece grăsimile naturale sînt formate din amestecuri din diverse trigliceride, nu pot fi caracterizate prin constante fizice nete. Temperaturile de topire nu coincid cu temperaturile de fier-

Tabelul 3—7

Temperaturile de topire ale unor gliceride naturale

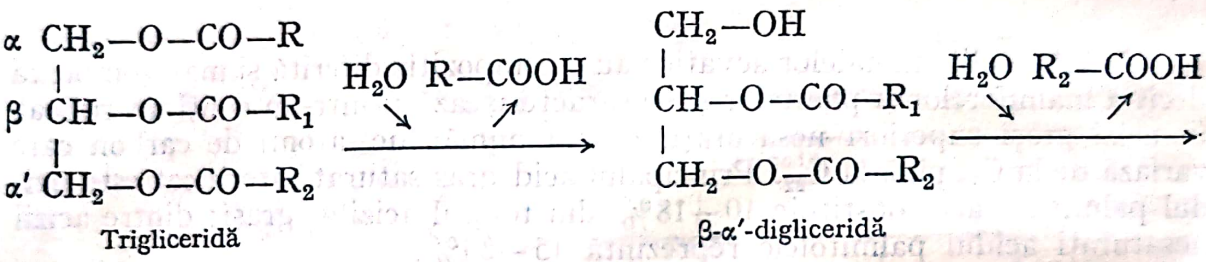
Gliceride	Temperatura de topire (°C)
Seu de oaie	44—52
Seu de bou	41—49
Slănină de porc	36—46
Untură de porc	28—33
Grăsime de cal	35—45
Grăsime de iepure	45—55
Grăsime de găină	33—40
Grăsime de gîscă	26—34
Unt de vacă	28—33

Scanned with OKEN Scanner

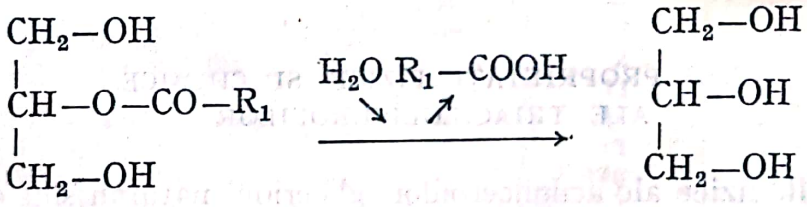
bere, datorită existenței formelor cristaline polimorfe. Aceste proprietăți servesc la stabilirea structurii trigliceridelor dintr-o grăsime naturală.

Proprietăți chimice. Acilglicerolii fiind esteri prezintă proprietățile chimice ale acestor substanțe; de asemenea, prezintă proprietăți chimice datorate resturilor de acizi grași esterificați și glicerolului din moleculă.

Hidroliza acilglicerolilor. Acilglicerolii care conțin în moleculă legături ester pot reacționa cu apa, rezultînd glicerol și acizii grași constituenți. Reacția se petrece însă foarte greu din cauză că aceste substanțe sînt nemiscibile cu apa; cu apa ele formează emulsii fine, care pot fi stabilizate cu ajutorul unor agenți emulsionanți (acizi și săruri biliare, saponine, proteine etc.). În laborator procesul de hidroliză poate fi accelerat prin prezența unor catalizatori chimici (acizi sau baze tari, respectiv prin ioni $-OH^-$ și H^+). În organismul animal hidroliza gliceridelor este catalizată de enzimele numite esteraze (lipaze). Reacția de hidroliză, în special cea enzimatică, are loc în etape; schematic poate fi prezentată astfel:



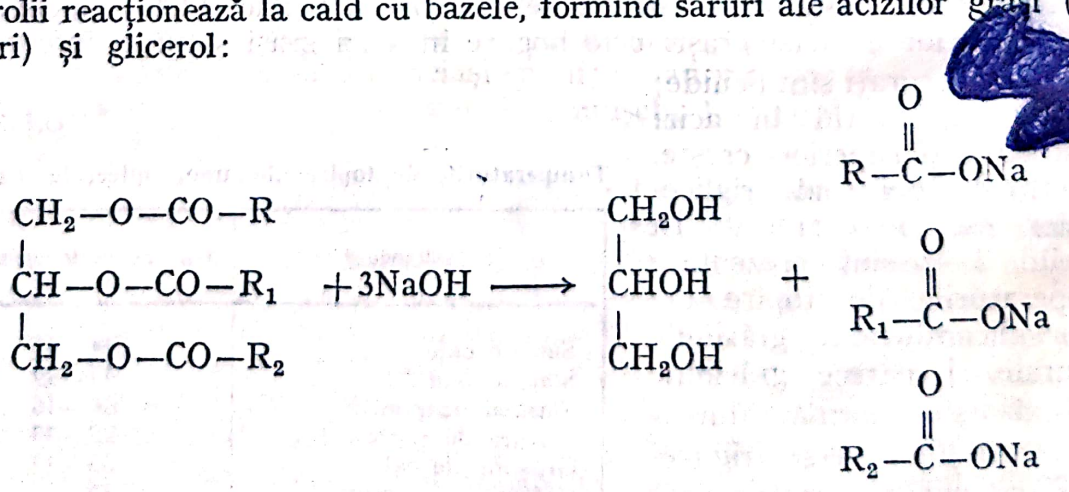
Trigliceridă — β-α'-digliceridă



β-monogliceridă — glicerol

Mărimea care caracterizează cantitatea de acizi grași puși în libertate de gliceride se numește indice de aciditate (Ia).

Saponificarea este o reacție care decurge asemănător cu hidroliza. Triacilglicerolii reacționează la cald cu bazele, formînd săruri ale acizilor grași (săpunuri) și glicerol:

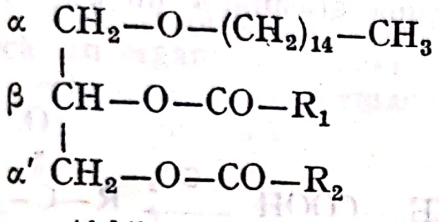


Procesul de saponificare este folosit în industrie la fabricarea săpunurilor. În funcție de compoziția chimică a diferitelor trigliceride, cantitatea de hidroxizi alcalini necesari saponificării este variabilă. Dacă în structura triglice-

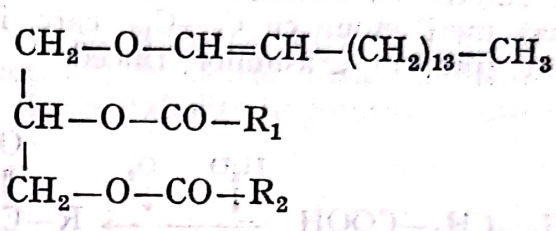
Scanned with OKEN Scanner

ridelor există acizi graşi cu masa moleculară mare, atunci cantitatea de hidroxizi necesară saponificării este mai mică. Mărimea care caracterizează gliceridele din acest punct de vedere se numeşte indice de saponificare (Is) şi reprezintă cantitatea în mg de KOH necesară pentru saponificarea unui gram de grăsime sau ulei. Pentru exemplificare prezentăm următorii indici de saponificare: seul de oaie, care conţine acizi graşi cu masă moleculară mare, are Is între 192 şi 195 (mai mic); slănina de porc între 193 şi 203; untul, care conţine acizi graşi cu masa moleculară mică între 220 şi 241.

Formarea alchil şi alchenil eter acilglicerolilor. Gliceridele pot forma cu diferiţi alcooli superiori (în condiţii speciale) compuşi care conţin două legături ester şi o legătură eter, de forma:



Alchil-eter-diacilglicerol

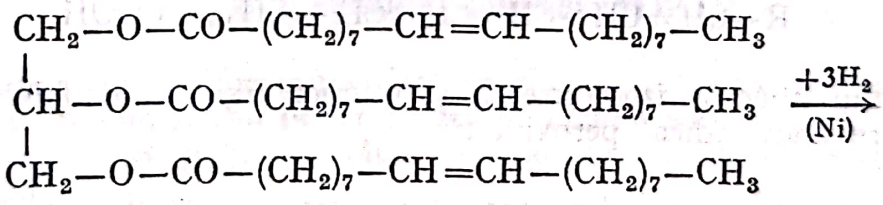


Alchenil-eter-diacilglicerol

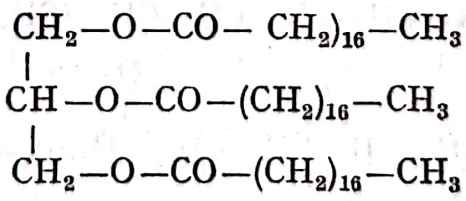
Aceste lipide sînt greu de separat de triacilgliceroli; au putut fi însă separate prin metode cromatografice de finețe.

Reacţii datorate catenei hidrocarbonate a acilglicerolilor. Catenele hidrocarbonate ale resturilor de acizi graşi etilenice conferă gliceridelor unele proprietăţi specifice, cum sînt r e a c ţ i i l e d e a d i ţ i e (de hidrogenare sau halogenare) şi de p e r o x i d a r e.

H i d r o g e n a r e a t r i a c i l g l i c e r o l i l o r n e s a t u r a ţ i are loc prin adiţia de hidrogen molecular la dublele legături, transformîndu-se astfel în triacilgliceroli saturaţi:



Trioleina



Tristearina

Uleiurile vegetale prin hidrogenare sînt solidificate şi folosite la prepararea margarinei. În procesul de obţinere a margarinei vitaminele liposolubile sînt distruse; este necesară deci îmbogăţirea artificială a margarinei în vitamine liposolubile.

H a l o g e n a r e a gliceridelor nesaturate are loc după acelaşi mecanism ca şi hidrogenarea (vezi acizii graşi). Cantitatea de halogeni (I_2 sau Br_2) în grame, fixată de o anumită cantitate de grăsime (100 g), caracteri-

zează gradul de nesaturare a acelei grăsimi și se numește *indice de iod* (Ii). Cu cît o grăsime are un conținut mai ridicat în acizi grași nesaturați, cu atît indicele de iod are o valoare mai mare.

R î n c e z i r e a. Gliceridele nesaturate și în special cele care conțin un număr mare de acizi polietilenici, în contact cu oxigenul, ozonul și umiditatea din aer, suferă un proces de autooxidare, analog cu cel descris la proprietățile acizilor nesaturați, cunoscut și sub numele de rîncezire. La acest proces contribuie o serie de microorganisme producătoare de enzime (de esteraze). Rîncezirea este însă un proces complex, care cuprinde toate transformările ce conduc la degradarea gliceridelor. Se crede că mai întîi ar avea loc o hidroliză parțială a gliceridelor, după care urmează oxidarea acizilor grași rezultați, cu formare de acizi β-cetonici; aceștia, prin decarboxilare, formează metilcetone cu C_8—C_{12}, care imprimă grăsimilor un gust foarte neplăcut (propriu grăsimilor rîncede):

$$R{-}CH_2{-}CH_2{-}COOH \xrightarrow[O_2]{H_2O} R{-}\overset{\overset{O}{\|}}{C}{-}CH_2{-}COOH \xrightarrow{-CO_2} R{-}\overset{\overset{O}{\|}}{C}{-}CH_3$$

Acid β-cetonic — Metilcetonă

Acizii grași nesaturați sînt oxidați la dubla legătură prin ruperea catenei (v. proprietățile chimice ale acizilor grași). Atacul oxidativ are loc sub acțiunea unui radical inițiator ($\dot{X}$). Acesta atrage un hidrogen de la gruparea metilenică din vecinătatea legăturii duble, sau mai ușor de la gruparea $-CH_2-$ cuprinsă între două legături etilenice (poziție alilică):

$$R{-}CH{=}CH{-}CH_2{-}CH{=}CH{-}(CH_2)_n{-}COOH + \dot{X} \longrightarrow XH +$$

$$+ R{-}CH{=}CH{-}\dot{C}H{-}CH{=}CH{-}(CH_2)_n{-}COOH$$

Radicalul liber se izomerizează și ulterior fixează o moleculă de O_2, dînd naștere unui radical peroxidic:

$$R{-}CH{=}CH{-}\dot{C}H{-}CH{=}CH{-}(CH_2)_n{-}COOH \rightleftharpoons$$

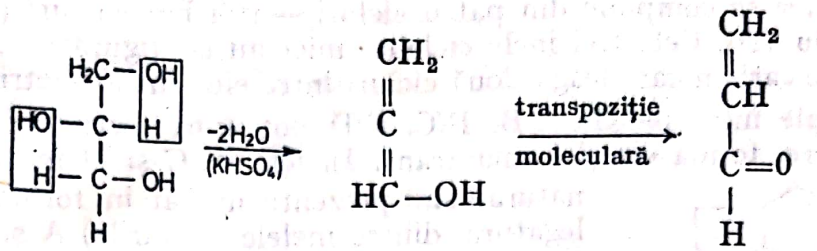
$$\rightleftharpoons R{-}CH{=}CH{-}CH{=}CH{-}\dot{C}H{-}(CH_2)_n{-}COOH \longrightarrow$$

$$\xrightarrow{+O_2} R{-}CH{=}CH{-}CH{=}CH{-}\underset{\displaystyle O{-}O\cdot}{\underset{|}{CH}}{-}(CH_2)_n{-}COOH$$

Radicalii peroxidici formați atacă alte catene provocînd și întreținînd reacția de peroxidare în lanț. Aceste procese pot fi întrerupte sau prevenite prin adăugarea unor cantități mici de substanțe antioxidante naturale, cum sînt: tocoferolii sau sintetice, galații de propil, octil etc. Procesele de rîncezire au loc în special cînd grăsimile naturale sînt păstrate în condiții necorespunzătoare.

R e a c ț i i d a t o r a t e g l i c e r o l u l u i (p r o p a n t r i o l u l u i). Glicerolul, componentă a acilglicerolilor și a multor lipide complexe, poate fi obținut din diferite reacții. Prin încălzire la temperaturi ridi-

cate gliceridele se pot descompune, cu formare de glicerol. Glicerolul în prezența unui deshidratant este transformat în aldehidă nesaturată, numită acroleină:



Glicerol — Enol — Acroleină

Acroleina (aldehida acrilică) are un miros caracteristic, înțepător; este toxică. În organismele animale glicerolul, în cadrul metabolismului intermediar, este oxidat, cu formarea a doi metaboliți importanți — dioxiacetona și aldehida glicerică.

3.3.1.4. IMPORTANȚA ACILGLICEROLILOR

Acilglicerolii reprezintă în primul rînd o importantă rezervă de energie pentru organismul animal; catabolizarea lor este însoțită de eliberarea unei mari cantități de energie (cantitate mai mare decît cea care se obține prin catabolizarea glucidelor sau protidelor). Ca lipide de rezervă se acumulează în diferite țesuturi și în special în țesutul adipos, de unde, în funcție de necesități, sînt mobilizate pentru a acoperi nevoile energetice. La homeoterme gliceridele îndeplinesc un rol important de protecție a organismului împotriva pierderilor de căldură.

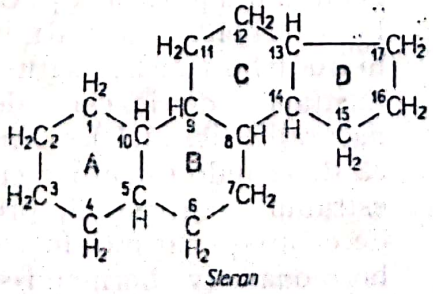
3.3.2. STERIDE. COMPUȘI STEROIZI

Steridele sînt lipide simple, larg răspîndite în regnul animal și vegetal, dar în cantități mici. Din punct de vedere chimic sînt esteri ai acizilor grași (în principal acid palmitic, oleic și linoleic) cu alcooli superiori ciclici numiți *steroli*.

Steridele sînt substanțe de culoare albă, solide, cristalizabile în stare pură, insolubile în apă; cu apa formează emulsii fine, stabile. Sînt solubile în hidrocarburi, derivații halogenați ai hidrocarburilor, acetonă etc.; greu solubile în alcool etilic la rece, ceva mai solubile la cald.

Sterolii, componenta alcoolică a lipidelor simple numite steride, fac parte din marea clasă de substanțe naturale numite compuși steroizi.

Compușii steroizi sînt derivați ai unei hidrocarburi ciclice saturate (ciclopentanperhidrofenantren), care a fost denumită steran:

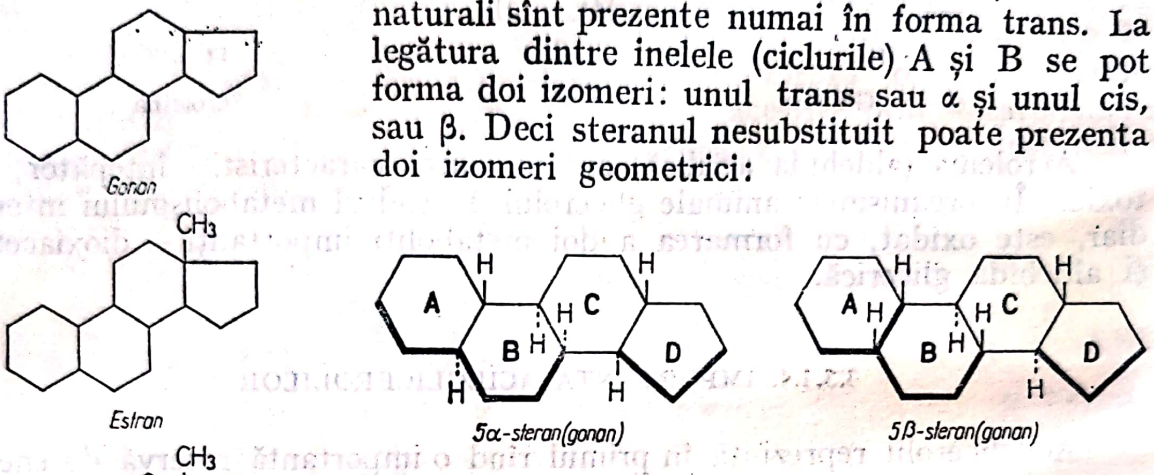


Steran

Trebuie menționat că valențele atomilor de carbon, legate de atomii de hidrogen, se găsesc orientate una în fața planului și una în spatele planului.

Posibilitățile de izomerie ale nucleului de bază. Nucleul de bază din structura steroizilor se compune din patru cicluri — trei hexacicluri (A, B, C) și un pentaciclu (D). Cele trei inele ciclohexanice au configurație „de scaun", iar atomii de carbon care leagă două cicluri între ele sînt asimetrici.

Legăturile între inelele A/B, B/C, C/D pot avea teoretic fiecare două forme izomere, forma cis și forma trans. Inelele B, C și D în toți steroizii naturali sînt prezente numai în forma trans. La legătura dintre inelele (ciclurile) A și B se pot forma doi izomeri: unul trans sau α și unul cis, sau β. Deci steranul nesubstituit poate prezenta doi izomeri geometrici:



Legăturile dirijate în spatele nucleului tetraciclic (în jos pe planul hîrtiei) sînt denumite legături α și se notează cu linie întreruptă, iar cele care sînt dirijate în fața planului (în sus pe planul hîrtiei) sînt notate cu linie continuă și numite legături β.

Configurațiile celorlalte centre de izomerie (C_4, C_8, C_{10}, C_{13}, C_{14}) sînt aceleași la toți steroizii naturali.

Atomii de carbon situați la joncțiunea ciclurilor (C_5; C_8; C_{10}; C_9; C_{13}; C_{14}) sînt legați de un singur atom de hidrogen (poartă un singur substituent), care poate lua cele două orientări α și β, ceea ce teoretic creează posibilitatea existenței a 64 sterani stereoizomeri.

Prin substituirea unor atomi de hidrogen cu diferiți radicali sau funcțiuni chimice, se creează posibilitatea unor asimetrii suplimentare.

Compușii steroizi (steroidici) au structuri înrudite. Toți acești compuși au la bază structura steranică. Prin substituirea, de exemplu, a hidrogenului din pozițiile C_{10}, C_{13}, C_{17} cu diferiți radicali hidrocarbonați saturați, se formează o serie de hidrocarburi ciclice saturate, considerate „fundamentale", de la care derivă compușii steroizi naturali (fig. 3.1.). Din figura 3.1. se constată că de la hidrocarburile ciclice saturate (gonanul, estranul, androstanul, pregnanul) derivă o serie de compuși naturali foarte importanți, cu acțiune hormonală (v. hormonii steroizi).

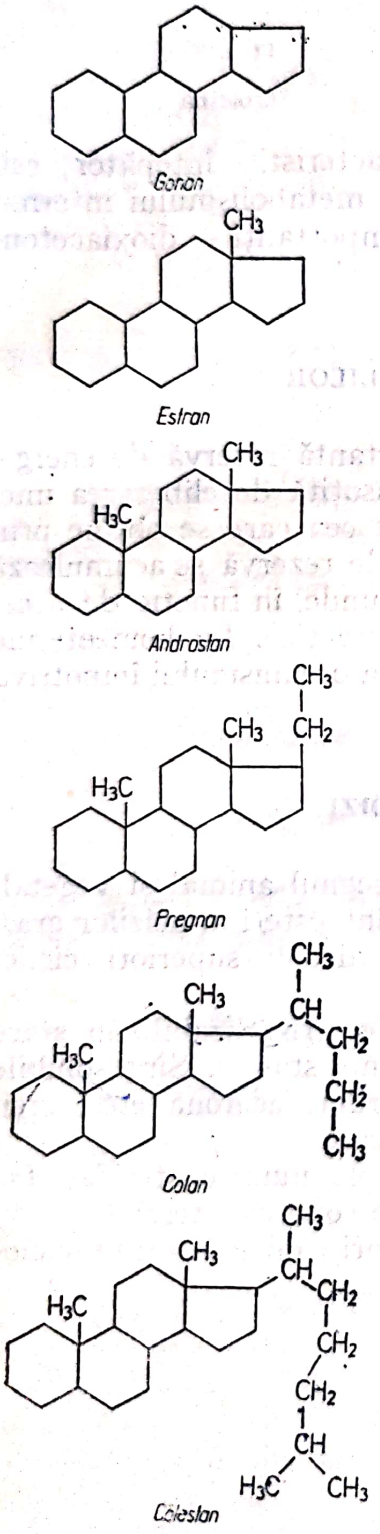
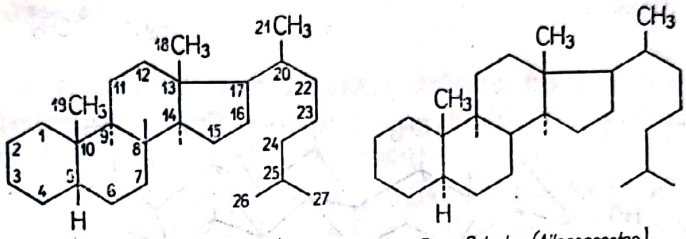


Fig. 3.1. Substanțele din structura cărora derivă principalele categorii de steroizi naturali.

În acest capitol vor fi tratați compușii care provin de la hidrocarburile colestan — C_{27} sterolii — și de la colan — C_{24} acizii biliari. Este necesar să se precizeze că toți steroizii naturali derivă din terpena liniară *scualen*, care se ciclizează ușor, cu formare de lanosterol, precursorul colesterolului în țesuturile animale.

3.3.2.1. STEROLI

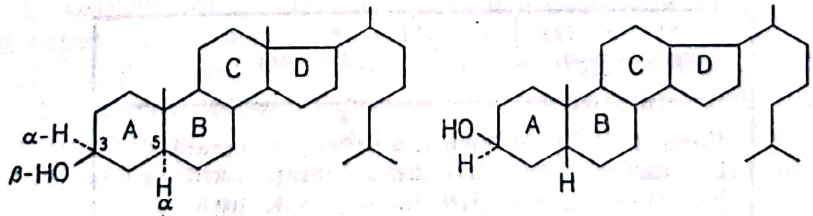
Sterolii sînt alcooli superiori, care derivă de la hidrocarbura saturată colestan (C_{27}) și care au în poziția C_3 a ciclului steranic o grupare hidroxilică. Colestanul prezintă doi izomeri geometrici:



5-β-Colestan (Coprostan) 5-α-Colestan (Alocoprostan)

Pozițiile 5-α și 5-β sînt considerate în raport cu radicalul $-CH_3$, substituit în poziția C_{10}. Această situație de formare de izomeri α și β este valabilă pentru toți steroizii în care atomul C_5 este saturat. În cazul steroizilor (deci și a unor steroli), la care atomul C_5 prezintă o dublă legătură (C_4—C_5 sau C_5—C_6). absența hidrogenului împiedică apariția unei stereoizomerii între inelele A/B. Pentru simplificarea scrierii formulelor radicalii metil din pozițiile C_{10}, C_{13} (numiți metili angulari) și cei din poziția C_{20}, se pot prezenta printr-o linie plină, fără să se mai scrie $-CH_3$. S-a stabilit că metilii C_{18} și C_{19} se găsesc deasupra planului, deci au o configurație β (cis). Colestanul are un atom de carbon asimetric (C_{17}) în plus față de steran, deci numărul izomerilor se dublează ($64 \times 2 = 128$).

Datorită —OH din poziția C_3 (care există în structura tuturor sterolilor) și C_3 devine asimetric, fapt care duce la dublarea numărului izomerilor în cazul sterolilor saturați în poziția C_5. Astfel de la colestan sterolul care derivă, colestanolul, poate prezenta două forme izomere, datorită poziției hidroxilului din C_3:



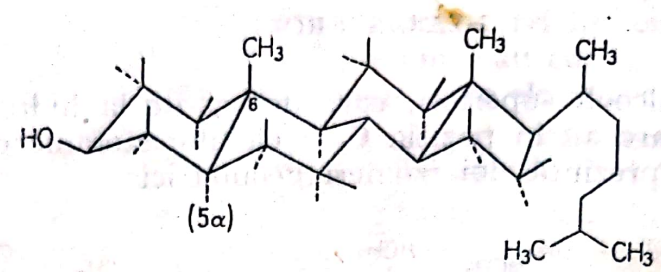
Colestanol (forma α sau trans) Coprostanol (forma β sau cis)

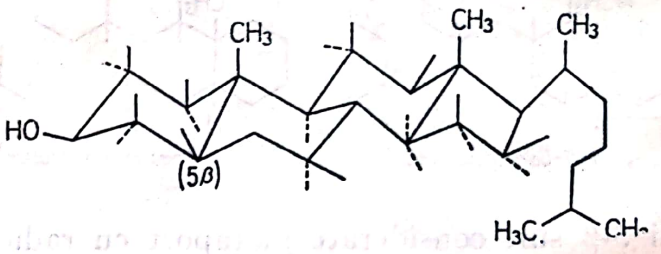
Inelele ciclohexanice, nefiind coplanare, apar în spațiu sub formă de „scaun", în care cei doi atomi de carbon din poziția simetrică sînt situați în sus și în jos față de planul nucleului. Substituenții — în acest caz hidroxilul din C_3 — pot fi situați ecuatorial, deci lateral față de planul nucleului,

Scanned with OKEN Scanner

fie axial, deci perpendicular pe acest plan. Astfel devine posibilă apropierea unor grupări funcţionale în poziţia trans, sau a unor substituenţi în poziţia cis, fapt care imprimă moleculei anumite posibilităţi în ceea ce priveşte capacitatea de reacţie.

Imaginea reală spaţială a celor doi izomeri (colestanolul şi coprostanolul) poate fi redată astfel:





Steroli mai importanti. Aceşti compuşi sînt răspîndiţi atît în regnul animal cît şi în cel vegetal.

Organismele animale, cum sînt unele vertebrate, conţin un singur reprezentant al sterolilor — colesterolul —, în timp ce unii reprezentanţi din regnul animal cu o organizare primitivă conţin o gamă largă de compuşi sterolici. S-a încercat să se facă o clasificare a sterolilor, după originea lor în: zoosteroli, fitosteroli, micosteroli şi zimosteroli, clasificare care nu este valabilă deoarece aceste substanţe se găsesc atît în regnul vegetal cît şi în cel animal şi nu sînt strict specifice unui regn anume.

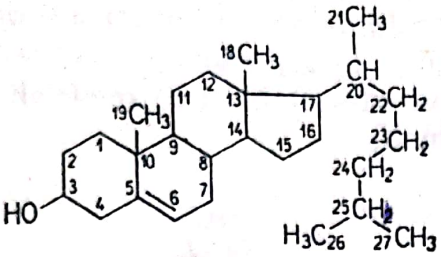
Tabelul 3—8

Proporţia colesterolului în unele organe şi ţesuturi animale (%)

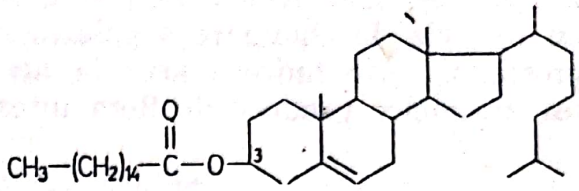
Organe, ţesuturi	Colesterol
Encefal	11,6 din substanţa uscată
Pulmoni	2,4 din substanţa uscată
Rinichi	1,9 din substanţa uscată
Splină	1,6 din substanţa uscată
Ficat	1,2 din substanţa uscată
Piele	1,1 din total
Cord	0,6 din substanţa uscată
Muşchi	0,3 din substanţa uscată
Sînge	0,2 din total
Păr	0,15 din total

Scanned with OKEN Scanner

Colesterolul. Dintre alcoolii steroidici colesterolul a fost primul compus cunoscut; este cel mai răspîndit și mai important sterol din organismul animalelor superioare (tab. 3—8). Are următoarea structură:



Colesterol



Palmitat de colesteril (steridă)

La baza structurii stă colestanul (hidrocarbură cu 27 atomi de carbon), față de care se deosebește prin existența unei duble legături între C_5—C_6 și a unei funcțiuni hidroxil (—OH) în poziția C_3.

Colesterolul este o substanță solidă, albă, insolubilă în apă, solubilă în cloroform, benzen, acetonă etc., insolubilă în alcool la rece, dar solubilă în alcool la fierbere; colesterolul este optic activ, dextrogir. Ca și ceilalți steroli, cu acizii grași formează steride. De exemplu, cu acidul palmitic formează palmitatul de colesteril (vezi formula de mai sus). Cu digitonina formează un compus greu solubil iar cu anhidrida acetică formează o colorație verde; ambele reacții sînt folosite pentru determinarea cantitativă a colesterolului.

Rolul colesterolului în organism. În organism colesterolul îndeplinește multiple roluri:

— acționează asupra permeabilității eritrocitelor, influențînd procesele de difuzie;

— participă la emulsionarea lipidelor la nivelul intestinului, prin micșorarea tensiunii superficiale dintre apă și lipide, deoarece posedă o grupare —OH, hidrofilă;

— participă la procesele de imunizare, absorbind pe particulele coloidale, pe care le formează cu apa, diferite toxine;

— se combină cu lizolecitinele și cu saponinele, care au o acțiune hemolizantă, formînd compuși insolubili; are deci un rol antihemolitic;

— participă la formarea chilomicronilor etc.

Nivelul colesterolemiei este mărit în numeroase situații biopatologice. În stările de hipercolesterolemie se intensifică atît excreția, cît și depunerea lui în țesuturi (cu predilecție în cele avînd un bioritm lent). Astfel se poate explica apariția aterosclerozei (depunerea colesterolului în intima arterelor); aterogeneza este considerată ca fiind un proces enzimopatologic, caracterizat printr-un deficit în enzimele metabolismului intermediar lipidic și protidic, cu participarea a unor numeroși alți factori, în parte favorizanți (endocrini, genetici, biochimici sanguini, vasculari etc.). Xantomatoza este depunerea colesterolului în țesuturi.

Colesterolul în organismul animal este precursorul altor steroli, a hormonilor steroizi, acizilor biliari și prin intermediul 7-dehidrocolesterolului este și precursorul vitaminelor D.

În organismele animale și vegetale alături de acest compus se mai găsesc și alți steroli cu funcții importante, cum sînt: coprostanolul, colestanolul (structura acestora a fost dată la stereoizomeria α, β a sterolilor),

Scanned with OKEN Scanner

7-dehidrocolesterolul, 7-colestenolul, lanosterolul, stigmasterolul, ergosterolul și sitosterolul; structura lor este prezentată în figura 3.2.

Colestanolul (5-α-*colestanol*) și *7-dehidrocolesterolul* se găsesc alături de colesterol în toate celulele vii, din diferite organe, dar în proporții mai mici. 7-Dehidrocolesterolul este precursorul colecalciferolului (vitamina D_3).

Coprosterolul (5-β-*colestanolul*) se găsește în fecale și constituie de fapt una din formele de eliminare a colesterolului. Transformarea colesterolului în coprostanol, prin hidrogenarea la nivelul atomilor C_5—C_6, are loc sub acțiunea enzimelor produse de flora intestinală.

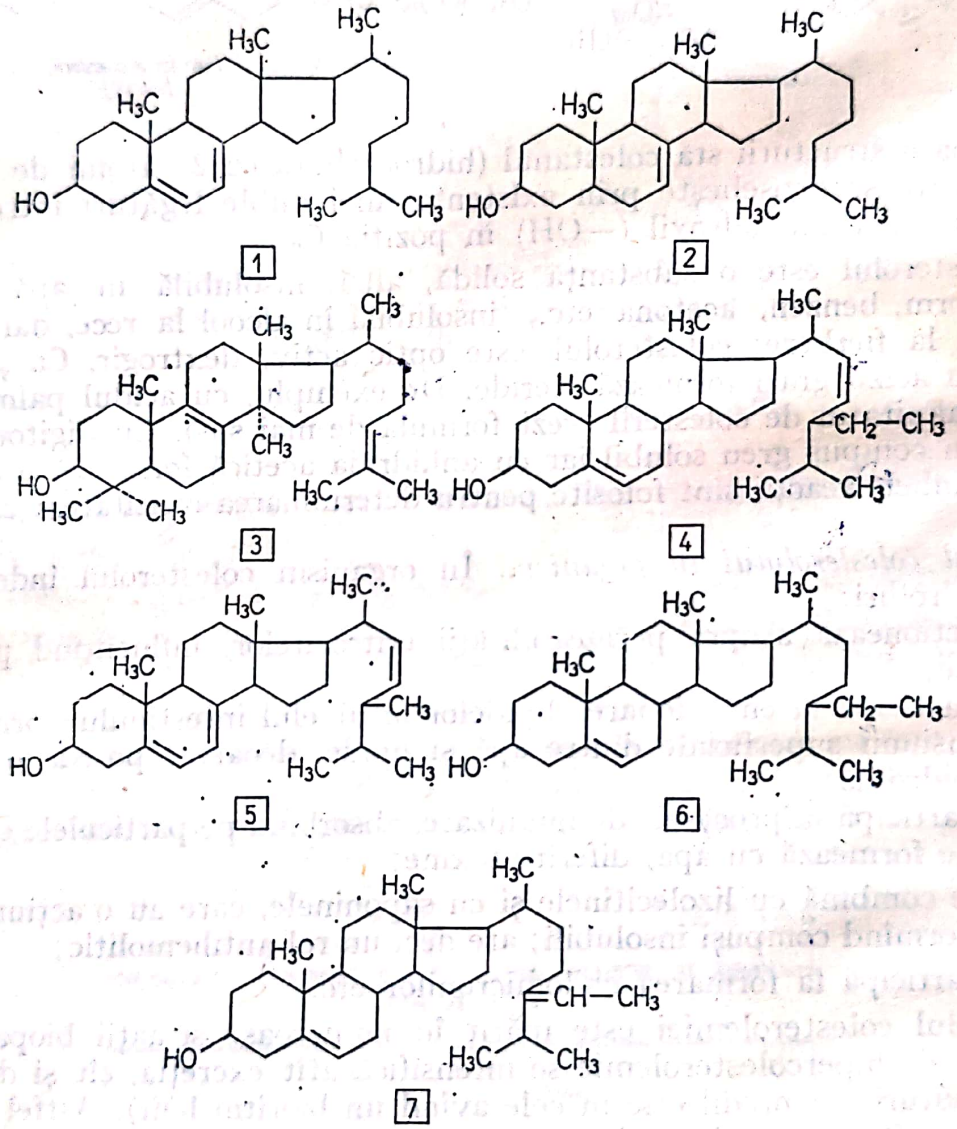


Fig. 3.2. Structura chimică a unor steroli cu rol important în organismele vii :
1 — 7-dehidrocolesterol; *2* — 7-colestenol; *3* — lanosterol; *4* — stigmasterol; *5* — ergosterol; *6* — sitosterol; *7* — fucosterol.

7-Colestenolul se găsește mai ales în piele, în proporție apropiată de a colesterolului.

Lanosterolul se găsește în lipidele de pe perii animalelor, mai ales în usucul de pe lîna oilor; a fost izolat pentru prima dată din lanolină.

Stigmasterolul și sitosterolul, denumiți și fitosteroli, se găsesc cu precădere în plantele superioare, în cantitate mai mare în semințele de cînepă, soia și în germenii boabelor de cereale; au fost identificați și în regnul animal.

Scanned with OKEN Scanner

Ergosterolul a fost izolat prima dată din S e c a l e c o r n u t u m; se găsește alături de colesterol în toate țesuturile animale. În cantitate relativ mare se întîlnește în ciuperci, drojdie, gălbenuș de ou, în alge și diferite bacterii. În piele, sediul biosintezei calciferolilor, ergosterolul se găsește în proporție de 35 — 40% din totalul sterolilor; este precursorul (provitamina) ergocalciferolului sau vitaminei D_2.

Toți sterolii sînt prezenți în organismul animal sub formă liberă sau sub formă de esteri cu acizii grași — steride.

3.3.2.2. ACIZI BILIARI

Acizii biliari și sărurile acestora sînt componenții principali ai bilei; sînt compuși endogeni sintetizați de către organismele animale din colesterol. Din punct de vedere structural sînt steroizi cu C_{24}, derivați ai colanului. Catena laterală este formată din cinci atomi de carbon și se termină cu o grupare carboxil la C_{24}. Acidul cu structură steranică care conține C_{24} este denumit acid colanic (nu face parte din acizii biliari). Acizii biliari pot fi considerați ca derivați hidroxilați ai acidului colanic; se deosebesc între ei prin numărul de grupări —OH și locul ocupat de acestea în moleculă.

Cei mai importanți acizi biliari pentru vertebratele superioare și om sînt: acidul colic (3α-7α-12α-trihidroxicolanic), acidul chenodeoxicolic (3α--7α-dihidroxicolanic), acidul deoxicolic (3α-12α-dihidroxicolanic) și acidul litocolic (3α-hidroxicolanic); sînt prezentați în figura 3.3.

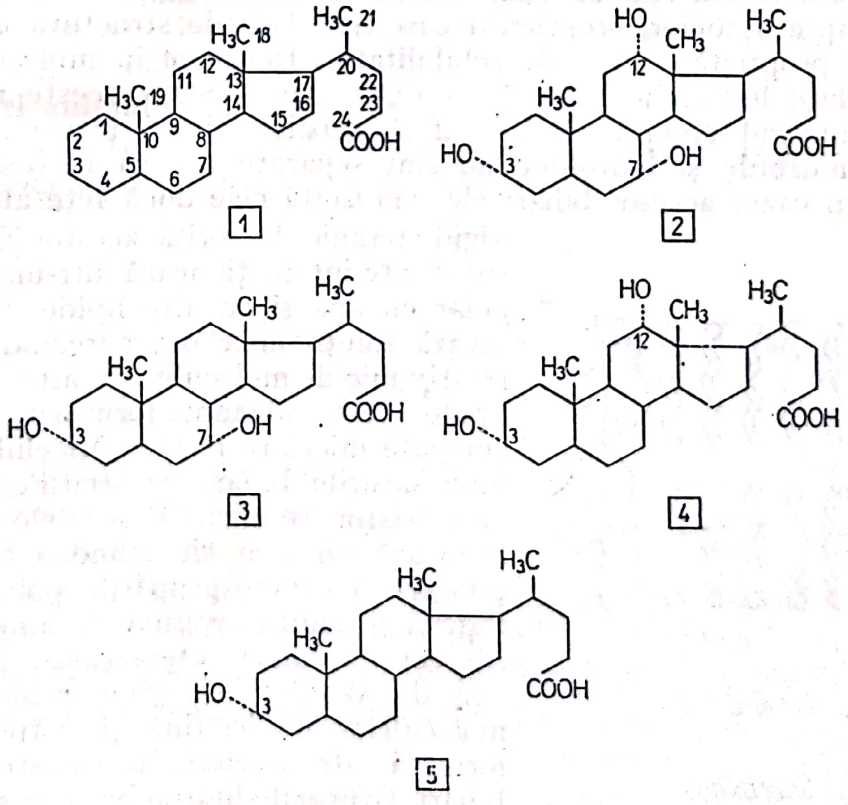


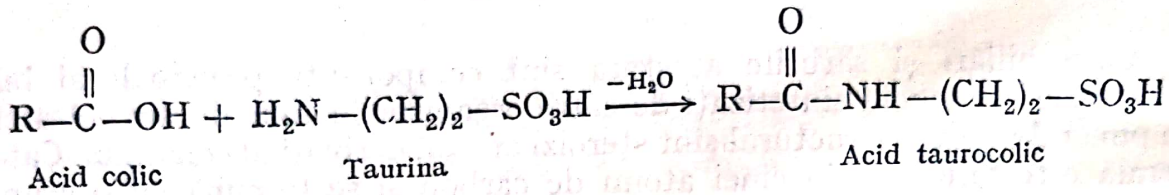
Fig. 3.3. Structura chimică a acizilor biliari:
1 — acidul colanic; *2* — acidul colic (3α — 7α — 12α-trihidroxicolanic); *3* — acidul chenodeoxicolic (3α — 7α-dihidroxicolanic); *4* —acidul deoxicolic (3α—12α-dihidroxicolanic); *5* — acidul litocolic (3α-hidroxicolanic).

Scanned with OKEN Scanner

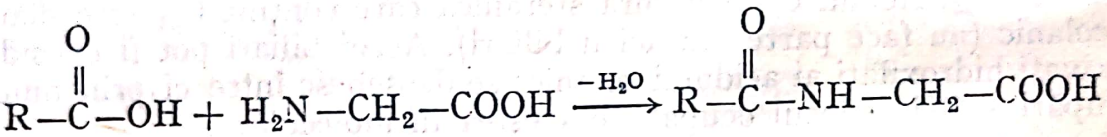
Configurația inelelor A/B la acizii biliari este de tip cis; grupările hidroxil se găsesc în poziția α.

Acidul colic și acidul chenodeoxicolic sînt considerați acizi biliari primari, deoarece sînt sintetizați la nivelul ficatului din colesterol; acizii deoxicolic și litocolic sînt sintetizați sub acțiunea microorganismelor, în lumenul intestinal, din acizii biliari primari; din acest motiv au fost numiți acizi biliari secundari.

În bilă acizii biliari se găsesc în cea mai mare parte conjugați cu taurina și glicocolul, cu formarea unei legături amidice. Reacția de amidificare are loc în ficat, cu formarea acizilor taurocolic și respectiv glicocolic:



Acid colic — Taurina — Acid taurocolic



Acid colic — Glicocol — Acid glicocolic

La *p*H-urile fiziologice acizii biliari conjugați se găsesc sub formă de săruri de sodiu solubile în apă.

Proprietățile și rolul acizilor biliari. Acizii biliari conjugați și sărurile alcaline ale acestora sînt substanțe tensioactive cu un puternic efect emulsionant asupra lipidelor, proprietate care este dată de structura acestor substanțe (au proprietăți unice de solubilitate). Deoarece în moleculă cuprind grupări polare hidroxilice, grupări $—COO^-$ sau $—SO_3^-$, aceste regiuni sînt hidrofile; nucleul steranic însă conferă acizilor biliari însușiri hidrofobe. Regiunile hidrofile și hidrofobe nu sînt separate net ca la fosfolipide, de exemplu. În cazul acizilor biliari ele reprezintă cele două fețe ale nucleului rigid steranic. Datorită acestor fapte aceste substanțe interacționează într-un mod particular cu apa și cu alte lipide. Cu apa formează soluții micelare, agregînd un număr relativ mic de molecule. Cu alte categorii de lipide aceste substanțe formează, foarte ușor, agregate micelare mixte. Miceliile formate, între sărurile biliare și lecitine, au forma unor bastonașe mici. Moleculele de lecitină formează un gen de cilindru bimolecular, care are la capete grupările polare — restul fosforil și ionul cuaternar de amoniu. Sărurile acizilor biliari interacționează prin forțe van der Waals cu regiunile hidrofobe ale moleculelor de lecitină și astfel particula formată este învelită cu un strat de acizi biliari. Grupările hidrofobe se găsesc în interiorul micelei, iar grupările hidrofile ale sărurilor biliare și ale fosfolipidelor se găsesc la exteriorul micelei mixte formate (figura 3.4).

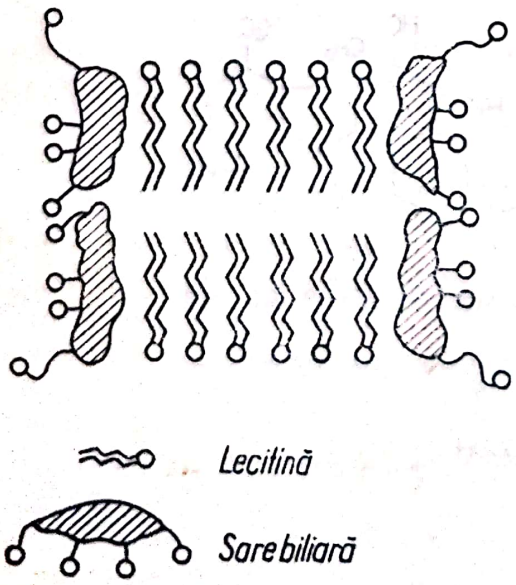


Fig. 3.4. Structura unei micelii mixte: sare biliară — lecitină (secțiune longitudinală).

Miceliile mixte, săruri biliare — lecitine, au capacitatea de a solubiliza diferite categorii de lipide polare și mai puțin polare cum sînt: monoacilglicerolii, acizii grași, triacilglicerolii, colesterolul și steridele. În felul acesta sărurile acizilor biliari facilitează absorbția prin peretele intestinal a unor substanțe insolubile în apă; ca activatoare a lipazelor exercită și o influență asupra digestiei lipidelor.

Acizii biliari, care se sintetizează și se conjugă cu cei doi aminoacizi la nivelul ficatului, trec în vezica biliară, de unde sînt excretați în intestinul subțire; în proporție de 90% sînt resorbiți, realizîndu-se un ciclu enterohepatic. În cazuri patologice acizii biliari (în cantități foarte mici) sînt excretați prin urină.

3.3.3. CERIDE

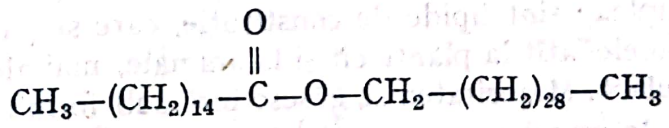
Ceridele sînt esteri ai unor acizi grași cu alcooli superiori cu masă moleculară mare; sînt constituenții principali ai substanțelor naturale numite *ceruri*.

Cerurile naturale sînt amestecuri de mai mulți esteri (dintre care predomină unul) cu cantități variabile de acizi și alcooli liberi, alcani și steride.

Cerurile sînt larg răspîndite în regnul vegetal (se găsesc pe frunze, tulpini, fructe etc.), constituind un strat de protecție împotriva pierderilor de apă, umidității excesive și atacului microbian. În regnul animal ceridele sînt secretate de unele glande cum sînt: glandele sebacee de la mamifere, glanda uropigenă a păsărilor și de glandele cerifere ale insectelor.

Ceridele sînt substanțe albe, amorfe, nemiscibile cu apa, solubile în eter, cloroform, benzen, insolubile în alcool etilic la rece. Nu sînt oxidabile și sînt foarte greu hidrolizabile.

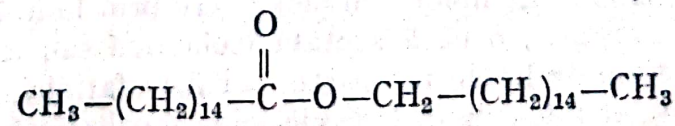
Ceruri animale. *Ceara de albine* conține un amestec de esteri, în care predomină palmitatul de miricil (peste 33%), un ester al acidului palmitic cu alcool miricic ($CH_3-(CH_2)_{28}-CH_2-OH$):



Palmitat de miricil

Ceara de albine mai conține acizi grași superiori liberi (13,5%) dintre care predomină acidul cerotic C_{26}, hidrocarburi cu C_{25}, C_{27}, C_{29} și C_{31} (12—15%) și alcooli liberi.

Spermanțetul și warlatul. Din capul și grăsimea de cașalot au fost izolate două ceruri: warlatul și uleiul de spermanțet. Warlatul este o ceară solidă formată în cea mai mare parte din palmitat de cetil, ester al acidului palmitic C_{16} cu alcoolul cetilic, tot cu C_{16}:



Palmitat de cetil

Scanned with OKEN Scanner

În compoziția uleiului de spermanțet se găsesc esteri ai unor acizi grași superiori saturați și nesaturați (cu C_{12}, C_{14}, C_{16}), esterificați cu alcool oleic:

$$CH_3-(CH_2)_7-CH=CH-(CH_2)_7-CH_2-OH$$

Alcool oleic

Lanolina este un amestec complex de esteri, alcooli liberi și acizi grași liberi. Spre deosebire de alte ceruri în compoziția lanolinei se găsesc steroli liberi (lanosterol, colesterol, 7-dehidrocolesterol etc.) sau esterificați. Dintre acizii grași predomină acizii lanomiristic și lanopalmitic, care posedă în moleculă catene ramificate.

Lanolina se extrage de pe lîna oilor (din usuc) și este utilizată în cosmetică, la prepararea unor creme; are capacitatea de a lega o mare cantitate de apă (pînă la 300%).

Ceridele sînt întrebuințate la fabricarea hîrtiei, unor lacuri, vopsele, creioane, la restaurarea tablourilor etc.

3.4. LIPIDE COMPLEXE

Lipidele complexe sînt compuși ai acizilor grași, cu o structură mai complexă. După natura alcoolului din structura lor au fost împărțite în două clase principale: *glicerofosfolipide și sfingolipide.*

Lipidele complexe, care conțin în moleculă un rest de acid fosforic, au fost denumite și *fosfatide* sau *fosfolipide,* iar cele care nu conțin fosfor în moleculă, ci sfingozină și glucide sau derivați ai acestora au fost denumite *glicolipide.*

În structura lipidelor complexe pe lîngă acizii grași și componenta alcoolică de bază mai participă: acid fosforic, aminoalcooli, aminoacizi, inozitol și diferite glucide.

Lipidele complexe sînt lipide de constituție, care se găsesc (în cantități mici) în toate celulele, atît la plante cît și la animale, mai ales în mitocondrii și membrana celulară. Majoritatea se găsesc însă sub formă de cenapse lipoproteice, fapt ce le maschează prezența față de reactivii citochimici ai lipidelor. În organismele animale se găsesc cu precădere în unele organe: în creier circa 30%, cord 7%, ficat 1% (raportat la substanța uscată). La mamifere proporția în care sînt prezente în diferite organe nu variază în funcție de alimentație.

Lipidele complexe joacă un rol deosebit de important în viața celulelor.

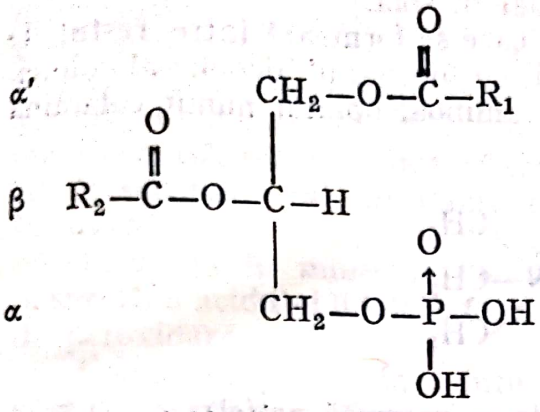
3.4.1. GLICEROFOSFOLIPIDE (GLICEROFOSFATIDE)

Glicerofosfolipidele sînt lipide complexe care prin hidroliză pun în libertate glicerol, acid fosforic, o bază azotată (colamina sau colina) și inozitol. Din această categorie de lipide fac parte: acizii fosfatidici, etanolaminfosfolipidele (cefalinele), colinfosfolipidele (lecitinele), inozitolfosfolipidele și acetalfosfolipidele (plasmalogenii).

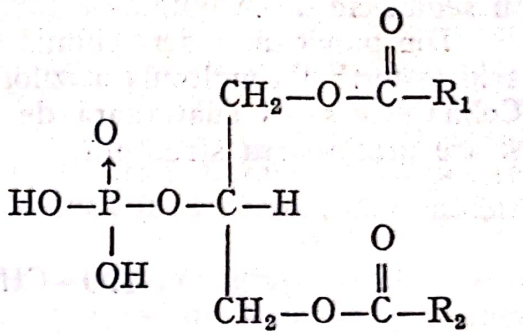
Scanned with OKEN Scanner

3.4.1.1. ACIZI FOSFATIDICI

Acizii fosfatidici sînt cele mai simple glicerofosfolipide, care conțin în moleculă glicerol, acizi grași și un rest de acid fosforic:



Acid α-fosfatidic



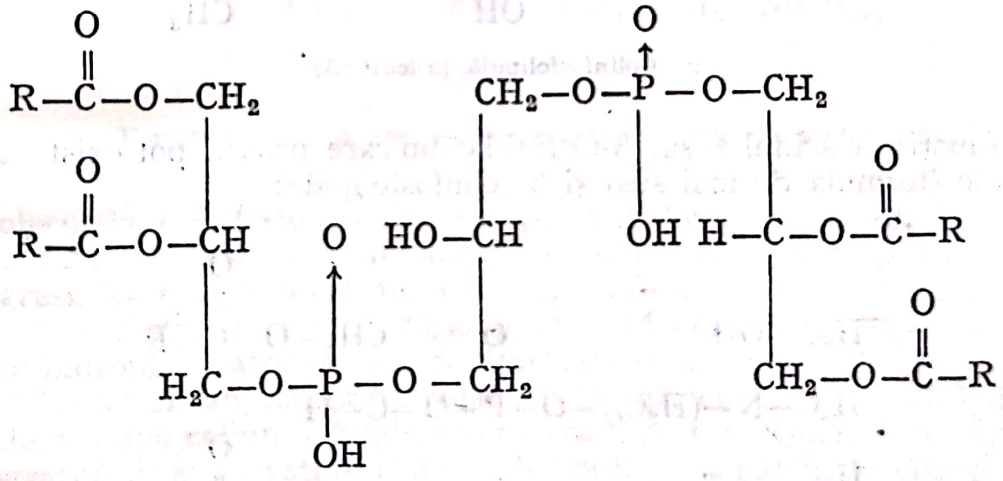
Acid β-fosfatidic

În organismele vii se găsesc numai acizi L— α-fosfatidici; aceștia, ca și glicerofosfolipidele, prezintă izomerie optică și fac parte din seria sterică L.

Principalii acizi grași care intră în structura acizilor fosfatidici sînt: acidul palmitic, stearic, oleic, linoleic și linolenic.

Acizii fosfatidici s-au identificat și în țesutul nervos și respectiv în ficat. Acizii fosfatidici intră în structura tuturor fosfatidelor; ei joacă un rol important în biosinteza acilglicerolilor și a fosfatidelor.

Cardiolipina sau cardiolipida este un derivat al acizilor fosfatidici, care a fost izolată din miocard; are următoarea structură:



Cardiolipidă

Este formată din două molecule de acid fosfatidic legate esteric de o moleculă de glicerol.

Cardiolipidele se găsesc în multe țesuturi animale, în special în miocard, în plante și microorganisme; sînt folosite în unele reacții serologice (reacția Wassermann).

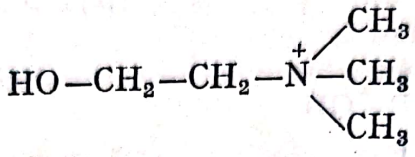
3.4.1.2. COLINFOSFOLIPIDE (COLINFOSFATIDE)

Colinfosfolipidele, denumite impropriu și lecitine, sînt reprezentanții cei mai răspîndiți ai glicerofosfolipidelor, care se găsesc în toate țesuturile animale și vegetale. Proporția lor în diferite organe animale este relativ mică

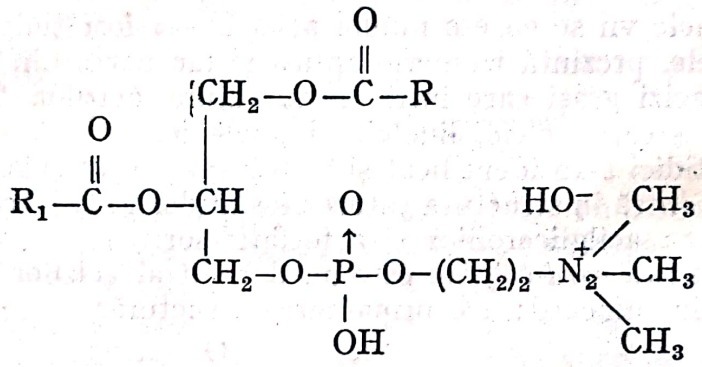
Scanned with OKEN Scanner

și anume: ficat de taurine 7%, rinichi de taurine 5,3%, mușchi de taurine 1,9%, encefal uman 4,9% etc. (din substanța uscată). În cantitate relativ mare sînt prezente în gălbenușul de ou (8,5%). În regnul vegetal se găsesc în semințele de leguminoase (2%), în special în soia.

Din punct de vedere chimic sînt esteri, care se formează între restul de acid fosforic din molecula acizilor fosfatidici, cu hidroxilul alcoolic al colinei. Colina este sarea cuaternară de amoniu a aminoalcoolului numit colamină și are următoarea structură:

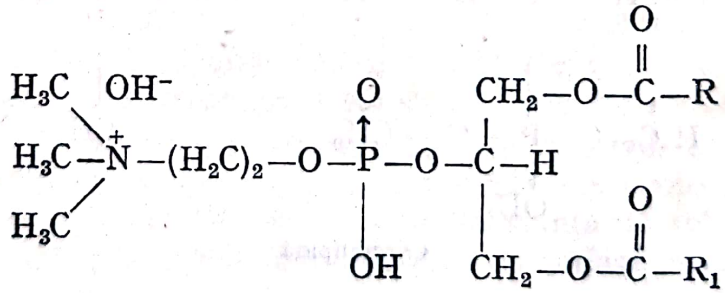


Formula generală a unei colinfosfolipide se prezintă astfel:



α—Colinfosfolipidă (α-lecitină)

În funcție de acidul α- sau β-fosfatidic din care provin pot exista α-colinfosfolipide (formula de mai sus) și β-colinfosfolipide:



β-Colinfosfolipidă (β-lecitină)

α- și β-Colinfosfolipidele sînt izomeri de poziție. În natură se găsesc numai α-colinfosfolipide; izomerul β se formează în cursul izolării colinfosfolipidelor naturale (H a n a h a n). Datorită existenței unui atom de carbon asimetric (β) în moleculă, colinfosfolipidele naturale prezintă activitate optică.

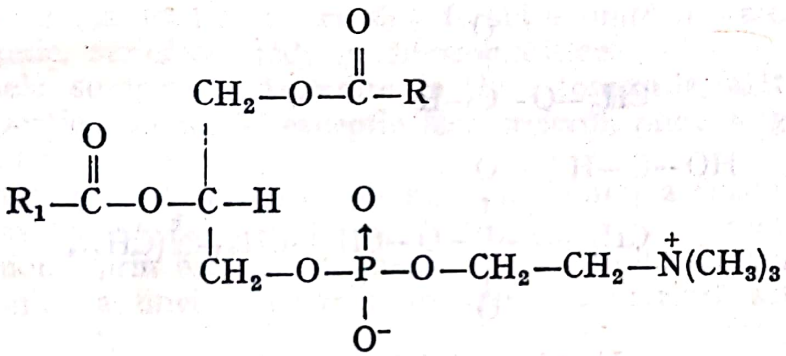
În structura colinfosfolipidelor intră aceiași acizi grași ca și în structura acilglicerolilor, cu deosebirea că diferă mai puțin în funcție de aportul exogen. Dintre aceștia mai des întîlniți sînt acidul palmitic, stearic, arachidonic, linoleic și linolenic. În organismele vii pot exista colinfosfolipide, care conțin esterificați fie numai acizi grași saturați, fie numai acizi grași nesaturați;

mai frecvent se întîlnesc însă colinfosfolipide care conţin esterificat, în poziţia α', un acid gras saturat, iar în poziţia β un acid gras nesaturat.

Proprietăţi şi rol biochimic. Proprietăţile fizico-chimice ale colinfosfolipidelor variază în funcţie de structura lor chimică. Colinfosfolipidele care conţin în moleculă numai acizi graşi saturaţi sînt solide, cristalizabile, uşor solubile în majoritatea solvenţilor organici, greu solubile în eter, eter de petrol şi acetonă. Cele care conţin în moleculă acizi graşi nesaturaţi se prezintă ca o masă ceroasă, moale şi sînt solubile şi în eter de petrol. Caracteristică pentru aceste substanţe este insolubilitatea lor în acetonă (acilglicerolii sînt solubili în acetonă).

Prezenţa în molecula colinfosfolipidelor a acizilor graşi nesaturaţi şi în special a acidului linoleic, face ca aceste substanţe să fie sensibile la reacţia de peroxidare.

Colinfosfolipidele în soluţii apoase formează pelicule monomoleculare şi se comportă ca amfiioni. Faptul că în moleculă conţin o funcţie acidă (restul de acid fosforic) şi una bazică (baza cuaternară de amoniu) le conferă caracter de ioni bipolari:



Forma bipolară a unei α-colinfosfolipide (structură amfiionică)

Moleculele colinfosfolipidelor au caracter amfipatic (amfifil), datorită faptului că în moleculă conţin catene hidrocarbonate lungi, provenite de la acizii graşi, care le conferă un caracter hidrofob; regiunea din moleculă, care conţine restul de acid fosforic şi de bază cuaternară de amoniu, este puternic hidrofilă. Datorită acestei structuri ele sînt miscibile şi cu solvenţii organici (nepolari sau mai puţin polari) şi cu apa cu care formează dispersii coloidale. Cu apa colinfosfolipidele formează structuri lamelare, în care alternează straturi de apă cu straturi duble de lipide; apa pătrunde printre grupările polare iar regiunile nepolare rămîn reunite prin interacţiuni hidrofobe (figura 3.5). Datorită acestor structuri lamelare simple, colinfosfolipidele posedă unele proprietăţi ale membranelor biologice, în care se găsesc în cantităţi destul de mari.

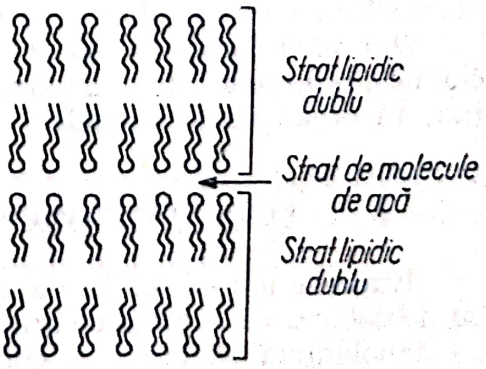
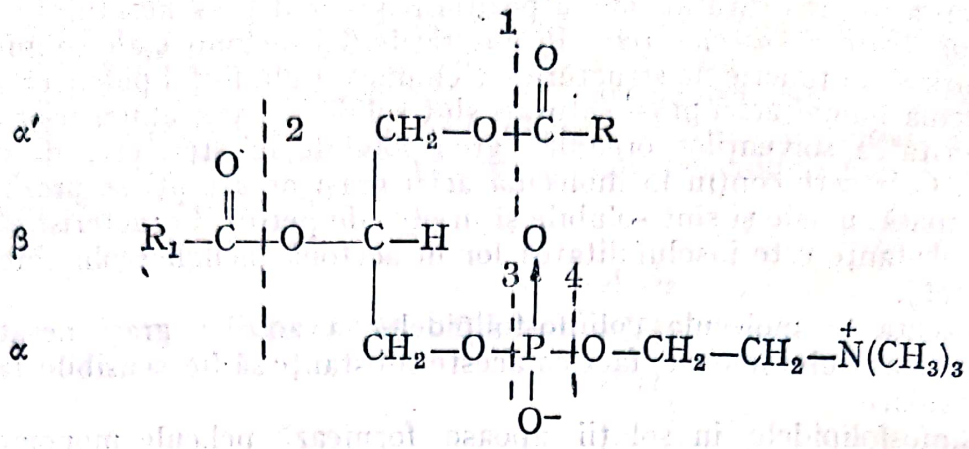


Fig. 3.5. Structuri lamelare formate de lecitină în mediu apos.

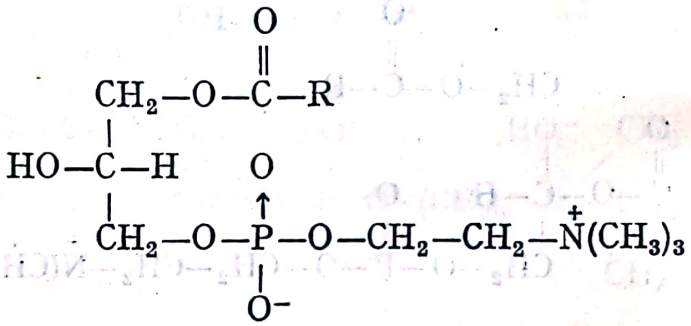
O altă proprietate importantă a colinfosfatidelor şi etanolaminfosfatidelor este reacţia de hidroliză, prin care sub acţiunea unor enzime specifice (fosfolipaze) sînt scindate cele patru legături

Scanned with OKEN Scanner

esterice din moleculă;



Fosfolipazele A (fosfatidacilhidrolazele) intervin în scindarea legăturii ester din poziția 2, de la atomul de carbon β, unde de obicei există un rest de acid gras nesaturat, cu formarea de lizocolinfosfolipide sau lizocolaminfosfolipide:



Lizocolinfosfolipidă (lizolecitină)

Lizoderivații glicerofosfolipidelor au o acțiune puternic hemolitică. În veninul de cobră se găsesc fosfolipaze A; așa se explică acțiunea toxică pentru organismele animale a acestui venin. Rolul fiziologic al lizoderivaților nu a fost pe deplin elucidat; în sînge, plasma sanguină și în sistemul nervos există diferite lizoglicerolfosfolipide, dar în cantități mici.

Fosfolipaza B acționează asupra legăturii ester din poziția 1 (specificată mai sus), cu formarea de glicerolfosfatcolină. Fosfolipaza C acționează asupra legăturii din poziția 3, iar fosfolipaza D asupra legăturii din poziția 4. Toate aceste lipaze scindează hidrolitic legăturile ester, cu punerea în libertate în final a constituenților: acizi grași, glicerol, acid fosforic și colină (sau colamină). Mecanismul de acțiune detaliat al fosfolipazelor este redat la metabolismul intermediar al acestor substanțe.

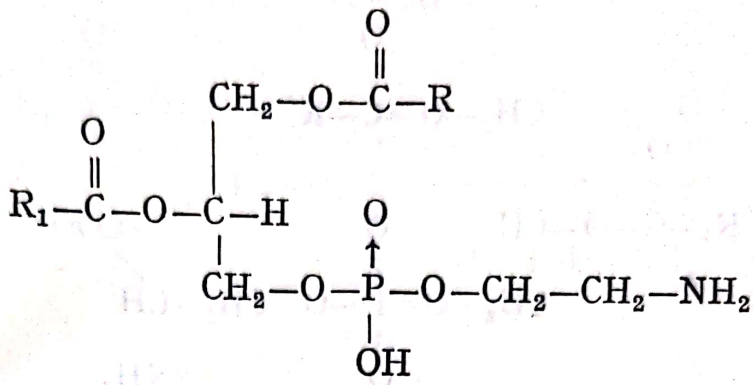
Din cele relatate se vede că aceste substanțe, prin proprietățile lor fizicochimice, proprietăți date de structura lor chimică, îndeplinesc un rol important în organismele animale.

3.4.1.3. ETANOLAMINFOSFOLIPIDE (COLAMINFOSFATIDE)

Etanolaminfosfolipidele au o structură asemănătoare cu colinfosfolipidele, cu deosebirea că acestea conțin în moleculă în loc de colină, un aminoalcool — etanolamina — numit și colamină:

$$HO-CH_2-CH_2-NH_2$$

Etanolaminfosfolipidele au următoarea formulă generală:



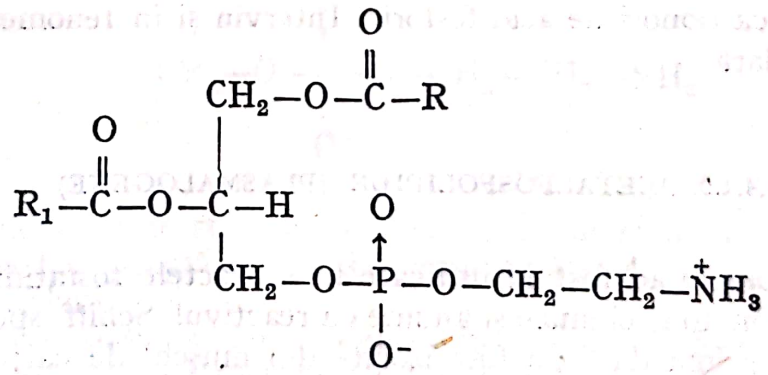
Etanolaminfosfolipidă (fosfatidiletanolamină)

Acizii graşi care intră în structura lor sînt aceiaşi ca şi la colinfosfolipide.

Colaminfosfolipidele au fost izolate pentru prima dată din creier şi denumite cefaline. Ulterior s-a demonstrat că cefalinele nu reprezintă substanţe unitare (ca lecitinele), ci sînt formate dintr-un amestec de etanolaminfosfolipide, serinfosfolipide şi difosfoinozitide.

Cefalinele se găsesc răspîndite în toate ţesuturile, alături de lecitine, dar în proporţie mai mică; excepţie face creierul, unde se găsesc în cantitate mai mare.

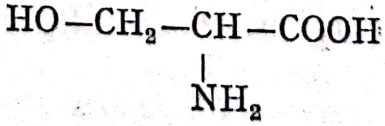
În ceea ce priveşte proprietăţile fizice şi chimice a colaminfosfolipidelor, acestea se aseamănă cu cele ale colinfosfolipidelor; au caracter bipolar, formează amfiioni; prin hidroliză formează lizofosfatidiletanolamine etc. Structura amfiionică a unei etanolaminfosfolipide se prezintă astfel:



Rolul lor în organismele animale este asemănător cu cel al colinfosfolipidelor.

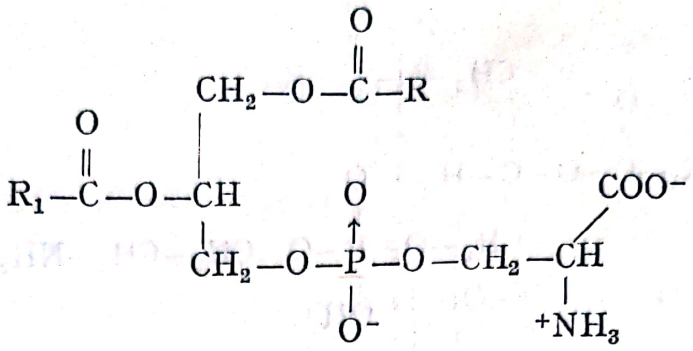
3.4.1.4. SERINFOSFOLIPIDE (FOSFATIDILSERINE)

Serinfosfolipidele conţin în structura lor o moleculă de acid fosfatidic, în care o funcţiune acid de la restul de acid fosforic este esterificată cu hidroxilul alcoolic provenit de la hidroxiaminoacidul numit serină:



Scanned with OKEN Scanner

Au următoarea formulă generală:



Serinfosfolipidă (fosfatidilserină)

Serinfosfolipidele au fost izolate din fracțiunea „cefalinică" din creier. S-a demonstrat că aceste substanțe conțin în moleculă serină, iar ca acizi grași acid stearic și oleic. Serinfosfolipidele se găsesc mai ales în creier, unde constituie circa 50% din cantitatea totală de glicerofosfolipide; au fost identificate și în alte organe animale (ficat, mușchi etc.), dar în proporție mult mai mică. În gălbenușul de ou sînt însă absente.

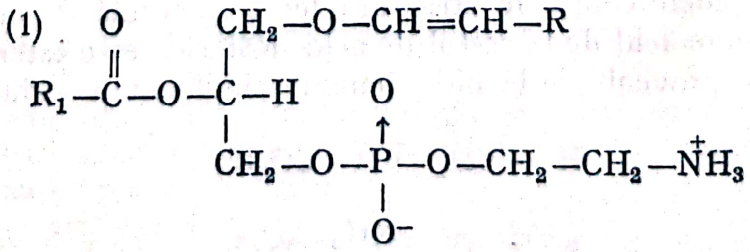
Serinfosfolipidele au proprietăți fizice analoage cu celelalte glicerofosfolipide, dar se deosebesc printr-o solubilitate mai restrînsă în etanol. Din punct de vedere al proprietăților chimice, conținînd în moleculă două funcțiuni acide, au un caracter acid mai pronunțat; din această cauză în țesuturi se găsesc sub formă de săruri de potasiu. Au un rol important în metabolismul intermediar ca donori de acid fosforic. Intervin și în fenomenele de permeabilitate celulară.

3.4.1.5. ACETALFOSFOLIPIDE (PLASMALOGENE)

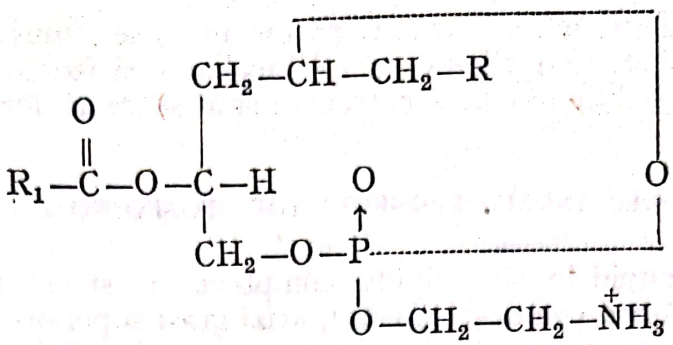
Acetalfosfolipidele au fost identificate în extractele fosfatidice obținute din țesuturi, prin metode chimice și anume cu reactivul Schiff specific pentru aldehide. Pentru prima dată au fost izolate din mușchi de cal; ulterior au fost obținute și din sistemul nervos.

În literatura de specialitate nu există o unitate de vedere în ceea ce privește formula structurală a acetalfosfolipidelor. Pe baza rezultatelor obținute prin hidroliza acetalfosfolipidelor din creier, s-au propus următoarele variante structurale:

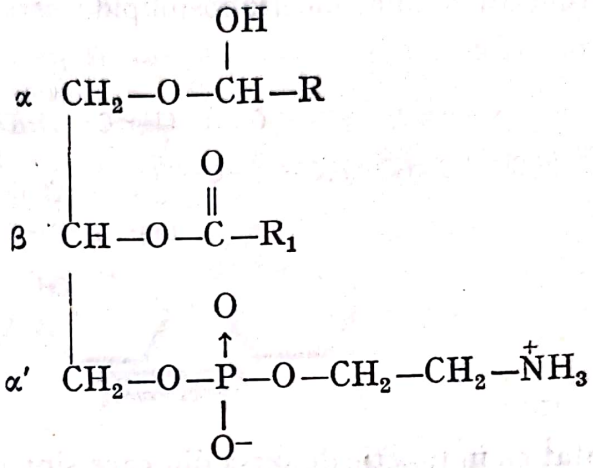
(1)



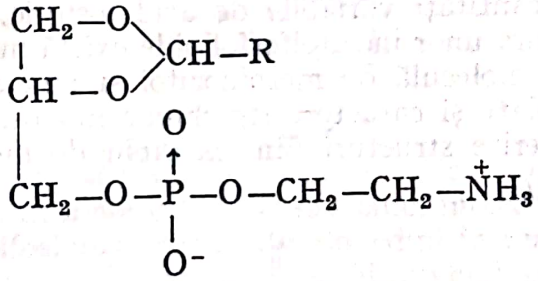
(2)



(3)



(4)



Dintre aceste forme structurale reacția acetalfosfolipidelor cu reactivul Schiff ar putea fi explicată numai de formulele 3 și 4; poziția legăturii eterice rămîne neclară.

După cum se observă din formule și în special din formula structurală (1), aceste substanțe au structură asemănătoare cu colaminfosfolipidele sau cu colinfosfolipidele și serinfosfolipidele, cu deosebirea că la atomul de carbon α există o legătură eter (nu ester), rezultată din reacția cu forma enolică a unei aldehide; deci în această poziție nu există un rest de acid gras, ci un rest de aldehidă. La atomul de carbon β există esterificat un rest de acid gras nesaturat (notat la substanțele prezentate mai sus cu R_1). Structura tipică însă de acetalfosfolipidă este reprezentată de formula (4).

Prin hidroliza acetalfosfolipidelor se obține fosforiletanolamina și aldehide ale acizilor grași, cum sînt aldehida acidului palmitic și stearic; nu s-au obținut aldehide ale acizilor grași nesaturați. Se cunosc și acetalfosfolipide care conțin în moleculă colină sau serină.

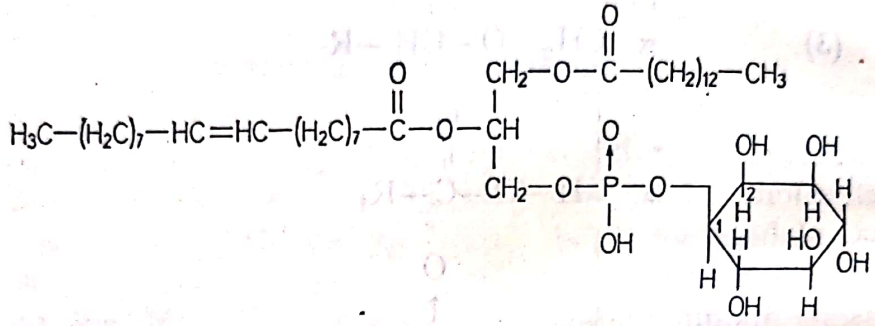
Acetalfosfolipidele se găsesc în toate țesuturile animale, dar mai ales în mușchi și în structura membranelor celulelor nervoase (1—10% din fosfolipidele totale). Proporția acestora în țesuturi este în funcție de vîrstă; la animalele tinere se găsesc în proporție mai mare decît la cele adulte.

Scanned with OKEN Scanner

Proporția relativ mare în care se găsesc în creier, mușchi și ficat atestă că acetalfosfolipidele îndeplinesc un rol biochimic și fiziologic, rol mai puțin elucidat; sînt instabile în cursul extracției și al separării lor.

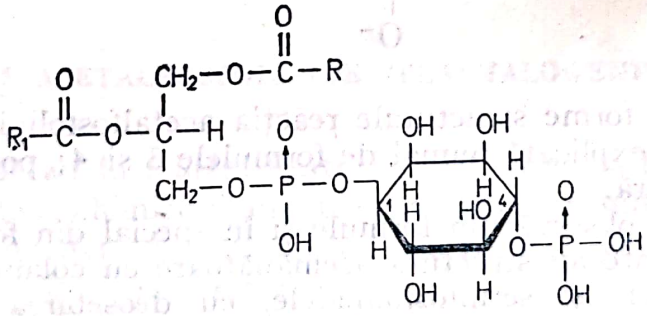
3.4.1.6. INOZITOLFOSFOLIPIDE (FOSFOINOZITIDE)

Inozitolfosfolipidele sînt lipide complexe, în structura cărora au fost identificați următorii compuși: glicerol, acizi grași superiori (saturați și nesaturați), acid fosforic și un alcool ciclic numit mioinozitol sau mezoinozitol; formula de structură a unei inozitolfosfolipide este:

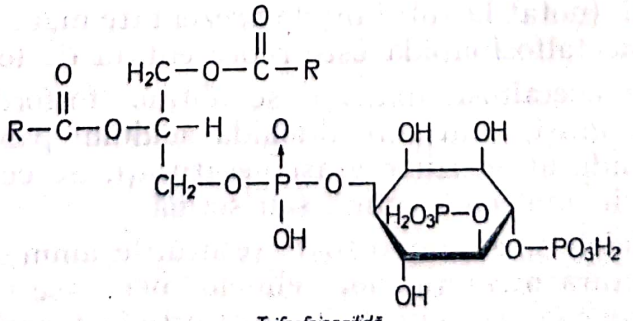


Fosfatidil-mezoinozitol (monofosfoinozitidă)

S-a constatat că în funcție de sursa din care sînt extrase, inozitolfosfolipidele pot conține cantități variabile de acid fosforic, ceea ce a dus la concluzia că în structura unor inozitolfosfolipide există mai multe resturi de acid fosforic, pentru o moleculă de mezoinozitol și una de glicerol. Din țesutul nervos au fost izolate și caracterizate chimic mono-, di- și trifosfoinozitide, care pot avea diferite structuri (un exemplu de monofosfoinozitidă a fost prezentat anterior):

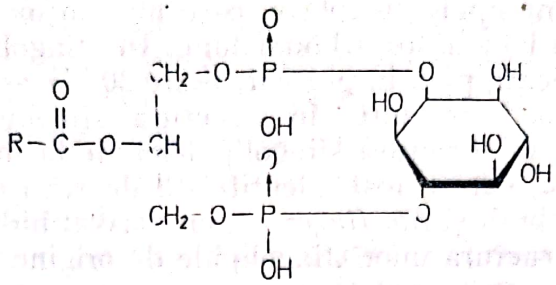


Difosfoinozitidă (1-fosfatidilmezoinozitol-4-fosfat)



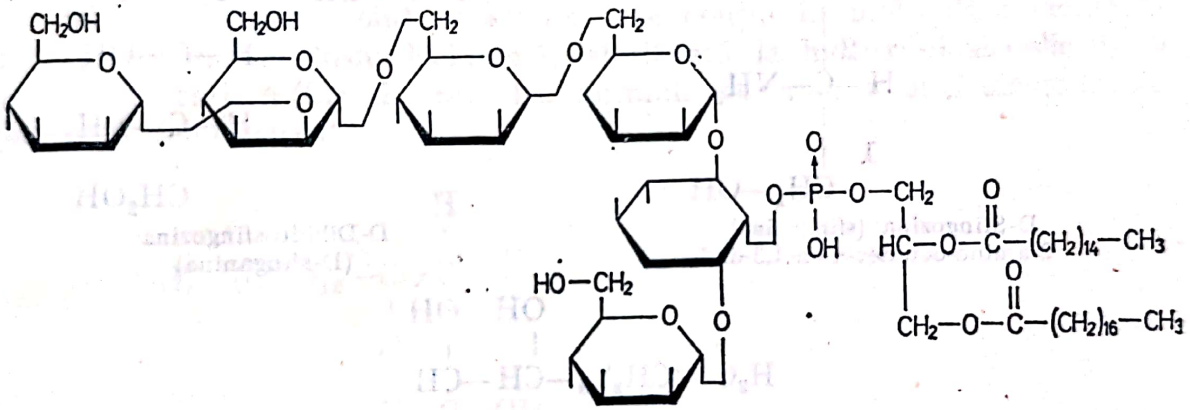
Trifosfoinozitidă (1-fosfatidilmezoinozitol-4,5-difosfat)

Din creier a fost izolată şi o difosfoinozitidă ciclică:



Difosfoinozitidă ciclică

În unele organisme vii se întîlnesc substanţe şi mai complexe, care pe lîngă constituenţii menţionaţi mai conţin oze (arabinoză, galactoză, manoză, glucoză), legate de acidul fosforic sau de inozitol. De exemplu, din micobacterii a fost izolată o substanţă, care conţine cinci resturi de manoză şi un rest de 1-fosfatidil-L-mezoinozitol:



Din *Mycobacterium tuberculosis* au fost izolate numeroase astfel de substanţe, care conţin în moleculă două sau cinci molecule de manoză.

Existenţa inozitolfosfolipidelor a fost dovedită în regnul vegetal, animal şi la unele bacterii acidorezistente. În regnul vegetal şi unele bacterii proporţia lor este mai mare decît în regnul animal; excepţie face creierul unde ele reprezintă 50% din extractul „cefalinic".

În afară de fosfolipidele descrise, care după cum s-a constatat se găsesc în proporţie relativ mare în sistemul nervos central al mamiferelor, în diferite ţesuturi se mai găsesc probabil şi alte lipide care conţin fosfor. În tabelul 3—9 este redată proporţia în care se găsesc diferite fosfolipide, izolate din creierul de şobolan, oaie şi bou.

Tabelul 3—9

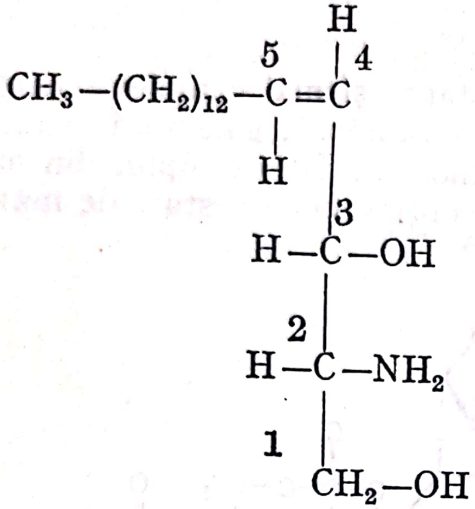
Proporţia fosfolipidelor izolate din creierul diverselor animale

Fosfolipide, în %	Şobolan	Oaie	Bou
Colinfosfatide	40—50	38,6	29,2
Etanolaminfosfatide	20,4—29,6	17,5	12,1
Serinfosfatide	14,3	16,0	16,6
Sfingomieline	7,2—8,6	9,4	12,5
Fosfoinozitide	3,6	2,2	2,2
Acizi fosfatidici	1,0—1,2	1,0	0,5
Acetalfosfatide	—	11,4	2,5
Fosfolipide neidentificate	1,9	5,6	2,1

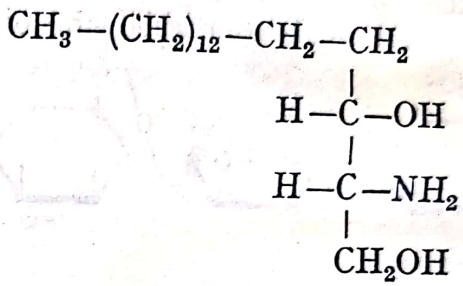
Scanned with OKEN Scanner

3.4.2. SFINGOLIPIDE

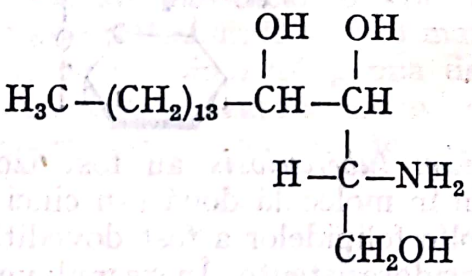
Sfingolipidele sînt lipide complexe, care nu conțin în moleculă glicerol, ci un aminoalcool cu lanț hidrocarbonat lung. În sfingolipidele de la diferite specii au fost identificați, pînă în prezent, peste 30 de astfel de aminoalcooli. Principalii aminoalcooli care intră în structura sfingolipidelor sînt: *sfingozina*, care se găsește în structura sfingolipidelor de la mamifere, *dihidrosfingozina* sau *sfinganina*, care a fost identificată de Karlson în structura unor sfingofosfolipide cerebrale și *fitosfingozina*, un derivat hidroxilat al sfingozinei, care se găsește în structura unor sfingolipide de origine vegetală:



D-Sfingozina (sfingenina)
2-amino-octadec-4-en-1,3-diol

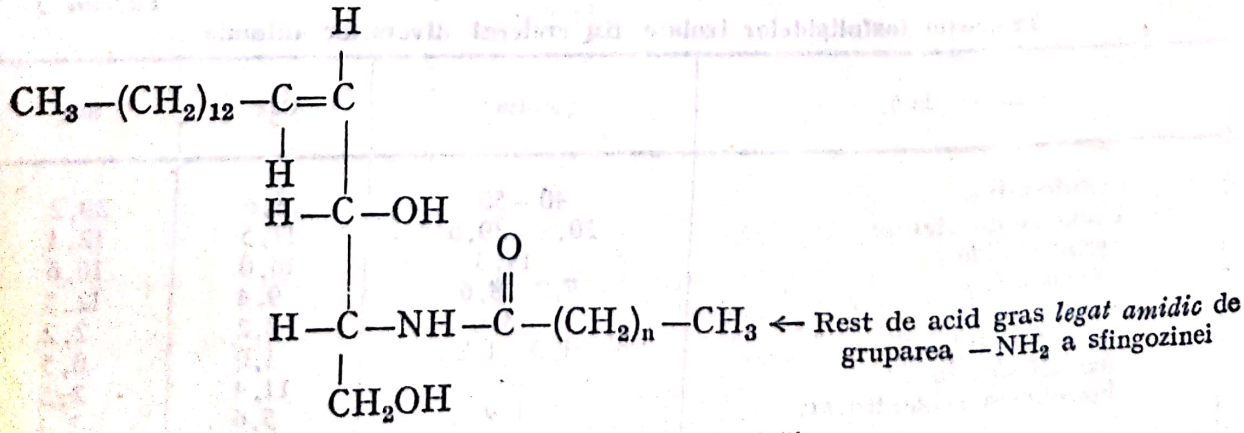


D-Dihidrosfingozina
(D-sfinganina)



Fitosfingozina

Acești aminoalcooli cu catenă lungă se găsesc în structura sfingolipidelor sub forma unor amide, formate cu diferiți acizi grași superiori, saturați, nesaturați și hidroxilați, cum sînt acidul stearic, lignoceric, behenic, cerotic, nervonic, hidroxinervonic și cerebronic (structura acestor acizi a fost dată la subcapitolul 3.2). Amidele cu acizii grași se numesc *ceramide* și au următoarea formulă generală:



Ceramida (N-acilsfingozină)

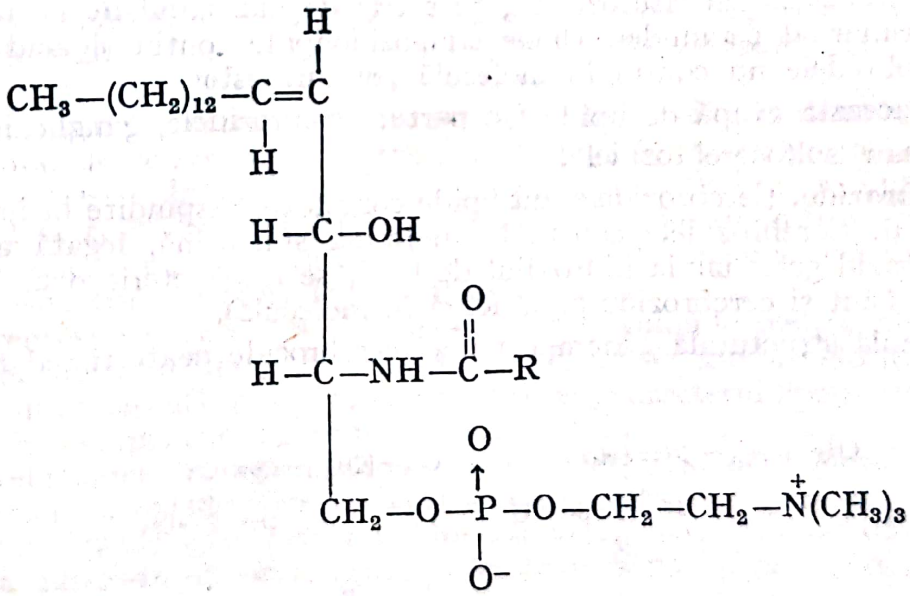
În același mod se formează și ceramidele celorlalte sfingozine.

Ceramidele (derivații N-acilați ai sfingozinei) se obțin prin hidroliza menajată a sfingolipidelor; au fost însă identificate ca atare în unele organe din corpul animalelor (ficat, splină, pulmon), precum și în diferite ciuperci; în *Penicillium* se găsesc ceramide cu fitosfingozină. Deoarece ceramidele se găsesc în structura tuturor sfingolipidelor, ele pot fi considerate ca substanțe de bază a acestor lipide, în analogie cu acizii fosfatidici, care stau la baza structurii glicerofosfolipidelor.

Sfingolipidele se împart în două grupe: sfingolipide care conțin în moleculă o ceramidă și fosforilcolină sau fosforilcolamină, numite *sfingofosfolipide* și sfingolipide care nu conțin fosfor în moleculă, ci o componentă glucidică legată direct de ceramidă numite *sfingozidolipide*.

3.4.2.1. SFINGOFOSFOLIPIDE

Sfingofosfolipidele sînt substanțe care conțin în moleculă o ceramidă și fosforilcolină sau fosforilcolamină, esterificată la hidroxilul alcoolic de la atomul de carbon (C_1) al ceramidei. Formula generală a unei sfingofosfolipide este următoarea:



Sfingomielină

Sfingomielinele se deosebesc între ele prin natura acidului gras amidificat; mai frecvent întîlniți sînt: acidul palmitic, lignoceric și nervonic. Sfingofosfolipidele din substanța cenușie conțin în proporție destul de mare acid stearic.

Sfingofosfolipidele se găsesc în cantități mici în toate țesuturile animale, mai abundente în substanța albă a sistemului nervos central și nervii periferici; participă la structura tecilor de mielină, de unde și denumirea de sfingomieline. Proporția sfingomielinelor în unele organe de la diferite specii de mamifere, în % din substanța uscată, este următoarea: rinichi de taurine 1,8; ficat de taurine 0,7; mușchi de taurine 0,2; encefal uman 5,7.

Scanned with OKEN Scanner

Proprietățile sfingofosfolipidelor sînt asemănătoare cu ale colin- și etanolaminfosfolipidelor. La *p*H 7 se prezintă sub formă de amfiioni și au caracter amfifil. Deoarece restul hidrocarbonat al sfingozinei din molecula lor și restul de acid gras amidificat însumează un număr de atomi de carbon sensibil egal cu acela a celor două resturi de acid gras din molecula colinfosfolipidelor, raportul dintre dimensiunile porțiunilor hidrofilă și hidrofobă este același la cele două categorii de substanțe.

Rolul lor fiziologic și biochimic nu este cunoscut; se cunoaște numai ca în cazuri patologice are loc o acumulare a acestor substanțe în diferite organe. Acumularea de sfingomieline în ficat, splină și creier, numită sfingomielinoză sau boala lui Nieman-Pick, are loc datorită unei erori congenitale și anume este determinată de o deficiență enzimatică (lipsa unei enzime numită sfingomielinaza), care duce la imposibilitatea ruperii legăturii dintre ceramidă și fosforilcolină.

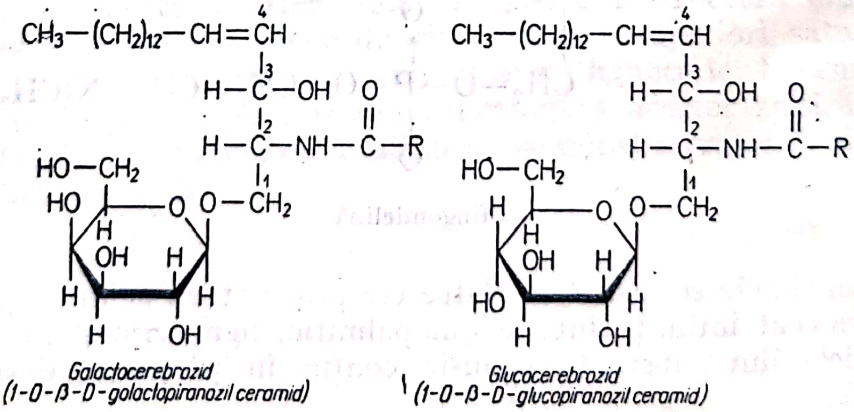
3.4.2.2. SFINGOZIDOLIPIDE (SFINGOGLICOLIPIDE)

Sfingozidolipidele sînt sfingolipide care nu conțin în moleculă fosfor. Sfingozidolipidele de natură animală sînt derivați ai ceramidelor, care conțin în moleculă diferite oze, legate eteric de hidroxilul de la atomul de carbon primar al ceramidei. Unele sfingozidolipide conțin și acid sulfuric. Sfingozidolipidele nu conțin în moleculă legături ester.

Din această grupă de lipide fac parte: cerebrozidele, gangliozidele, sulfatidele sau sulfocerebrozidele.

Cerebrozide. Cerebrozidele sînt lipide complexe, răspîndite în întreg regnul animal. Cerebrozidele conțin în moleculă sfingozină, legată amidic la C_2 cu un acid gras, iar la hidroxilul de la C_1 se leagă eteric o moleculă de galactoză (sînt și cerebrozide cu glucoză în moleculă).

Formula structurală generală a unei cerebrozide poate fi redată astfel:



Structură asemănătoare au și glucocerebrozidele, care sînt 1—O-β-D-glucopiranozilceramide. Galactocerebrozidele se găsesc aproape exclusiv în creier, iar glucocerebrozidele în sînge, splină și mucoasa intestinală.

Cerebrozidele (galacto — și glucocerebrozidele) se deosebesc între ele după natura acidului gras pe care îl conțin în moleculă; mai des întîlniți

sînt următorii acizi graşi:

$CH_3-(CH_2)_{22}-COOH$

Acid lignoceric

$CH_3-(CH_2)_7-CH=^{15}CH-(CH_2)_{13}-COOH$

Acid nervonic (Δ^{15}-lignoceric)

$CH_3-(CH_2)_7-CH=CH-(CH_2)_{12}-CH(OH)-COOH$

Acid α-hidroxinervonic

$CH_3-(CH_2)_{21}-CH(OH)-COOH$

Acid cerebronic
(α-hidroxilignoceric)

Toţi aceşti acizi graşi conţin în structura lor 24 de atomi de carbon şi se pot transforma uşor unul în altul. Acest fapt a dus la presupunerea că în organismele animale ar putea avea loc astfel de transformări. O serie de cercetători au izolat şi au demonstrat prezenţa în molecula cerebrozidelor şi a acizilor behenic, palmitic şi stearic; aceştia însă sînt rar întîlniţi.

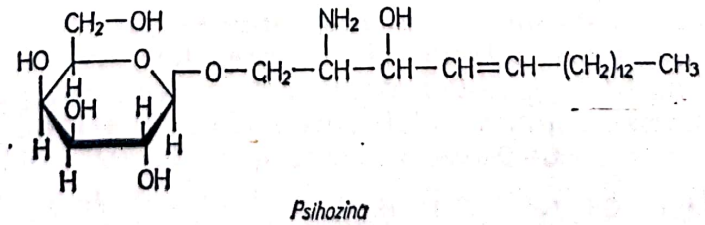
După natura acidului gras pe care îl conţin, cerebrozidele se împart în: *cerazine*, care conţin acid lignoceric; *cerebrone*, care conţin acid cerebronic; *nervone*, care conţin acid nervonic; *oxinervone*, care conţin acid hidroxinervonic.

Cerebrozidele se găsesc în cantităţi mari în substanţa albă din creier, în măduva spinării şi în microzomi. La mamiferele superioare în creier se găsesc circa 20—25 mg cerebrozide pe gram greutate umedă, iar în măduva spinării circa 50 mg/gram greutate umedă.

Cerebrozidele au fost obţinute în stare amorfă şi cristalizată; sînt substanţe moi, de consistenţa cerurilor. Sînt solubile în cloroform, acid acetic, piridină, amestec de metanol-cloroform etc.; insolubile în eter de petrol, eter şi etanol la rece. Solubilitatea şi insolubilitatea în anumiţi solvenţi stă la baza metodelor de separare a acestora. Conţinînd în moleculă un atom de carbon asimetric ele prezintă activitate optică.

Cerebrozidele mai sînt numite şi glicosfingolipide neutre, deoarece nu conţin în moleculă funcţiuni ionizabile, deci nu au sarcină electrică. Restul glucidic din moleculă le conferă caracter polar; caracterul lipofil este mai pronunţat în comparaţie cu fosfolipidele.

Cerebrozidele în organismele animale suferă reacţii de hidroliză sub acţiunea unor enzime specifice. În urma acestor reacţii se obţin: oza respectivă, sfingozina şi acidul gras. Printr-o hidroliză parţială poate fi scindată însă numai legătura amidică, rezultînd acidul gras şi glicozilsfingozina. Galactozil-sfingozina, numită şi p s i h o z i n ă are următoarea structură:



Psihozina

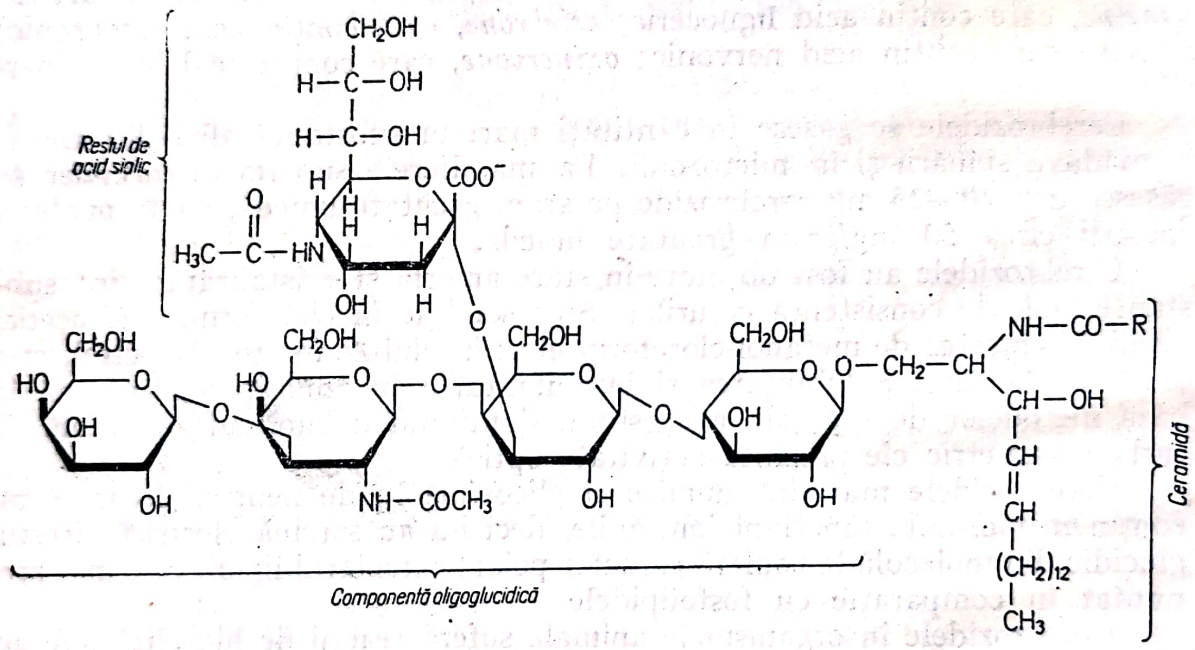
Psihozina este un compus intermediar, important în biosinteza galactocerebrozidelor.

În cazuri patologice glucocerebrozidele se acumulează în cantităţi care depăşesc de 10—20 ori cantitatea normală, în ficat, măduva osoasă, plămîni, creier şi leucocite; maladia se numeşte cerebrozidoză sau boala Gaucher.

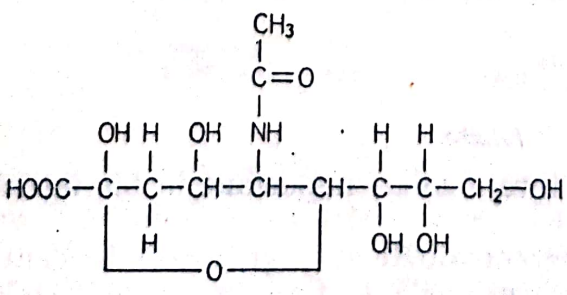
Această boală se datorește unei deficiențe enzimatice (lipsa enzimei β-D-glucozidaza), care scindează legătura dintre ceramidă și glucoză. Recent s-a constatat că această afecțiune se întîlnește și la animalele domestice.

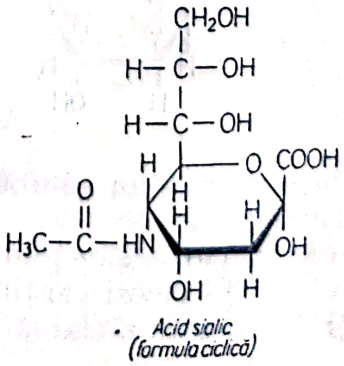
Gangliozide. Gangliozidele sînt sfingoglicolipide cu o structură foarte complexă. Prin hidroliza totală a gangliozidelor s-au obținut următoarele substanțe: sfingozină, acizi grași, glucoză, galactoză, N-acetilgalactozamina și acid N-acetilneuraminic (acid sialic).

Structura lor este însă mult mai complexă. De exemplu molecula gangliozidelor din creier este formată din aproximativ 100 de monomeri. Un monomer este format dintr-o componentă glucidică hidrofilă și o componentă de natură ceramidică hidrofobă. Componenta glucidică la rîndul ei este formată dintr-un oligoglucid (galactozil-N-acetil-galactozaminil-galactozil--glucozil), legat de unul, două sau trei resturi de acid N-acetilneuraminic (acid sialic). Structura unui monomer (monosialo-gangliozid) poate fi redată astfel:

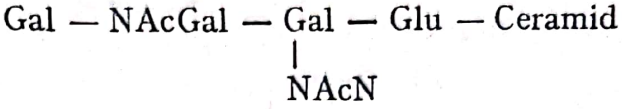


Acidul N-acetilneuraminic este un component specific gangliozidelor; a mai fost identificat și în structura unor mucopoliozide și mucoproteide. Acidul sialic este derivatul N-acetilat al acidului neuraminic și are următoarea structură:

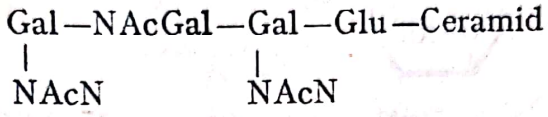




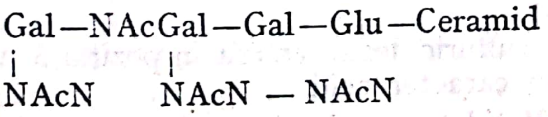
Gangliozidele au o compoziție eterogenă. S v e n n e r h o l m le clasifică în opt categorii, după raportul dintre sfingozină și acidul N-acetilneuraminic, numărul resturilor de monoglucide din moleculă, poziția în care este legat restul (resturile) de acid sialic etc. Se prezintă cîteva exemple:



Gangliozid monosialic



Gangliozid disialic



Gangliozid trisialic

Gal—galactoză; NAcGal—Nacetilgalactozamina; Glu—glucoza; NAcN—acid N-acetilneuraminic sau sialic.

Caracteristic pentru toate gangliozidele este faptul că ele conțin în moleculă întotdeauna un rest de glucoză, legat β-glicozidic cu ceramida. Acizii grași care predomină în structura gangliozidelor cerebrale izolate de la mamiferele superioare și de la om sînt: acidul stearic (80—90% din totalul acizilor grași) și acidul palmitic (10%). Lipsesc sau se găsesc în cantități extrem de mici acizii grași nesaturați și ramificați.

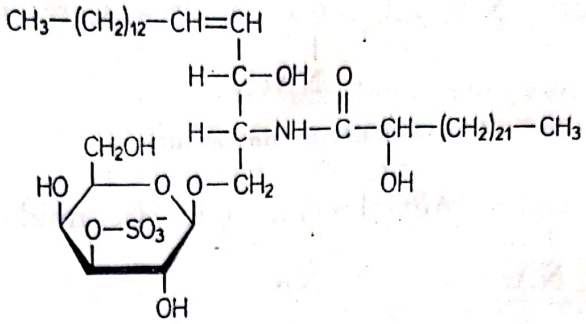
Datorită existenței în moleculă a unuia sau a mai multor resturi de acid sialic, gangliozidele au mai fost numite și *glicosfingolipide acide*. Resturile de acid sialic la *p*H 7 au sarcini negative și sînt îndreptate spre suprafața moleculelor de gangliozide, conferind acestora proprietăți polianionice hidrofile.

Gangliozidele au fost izolate pentru prima dată de Klenk, 1941; sînt substanțe solubile în amestecuri de benzen-etanol, piridină și acid acetic glacial, insolubile în eter și acetonă. Se găsesc în cantități mari în substanța cenușie a creierului, iar în cantități mici și în alte țesuturi.

Gangliozidele, găsindu-se în cantitate mare la nivelul terminațiunilor nervoase, se crede că au un rol important în transmiterea impulsului nervos la nivelul sinapselor; ele sînt prezente la nivelul receptorilor colinergici (pentru acetilcolină), sau pentru alți mediatori chimici (substanțe neuro-transmițătoare). Gangliozidele au capacitatea de a restaura excitabilitatea țesutului nervos, inhibată de către proteinele bazice, cum sînt spre exemplu histonele; într-adevăr prin menținerea la rece a țesutului nervos histonele migrează din nuclei, împiedicînd influxul K^+. Acțiunea histonelor este blocată prin legarea acestora de gangliozide. Unele gangliozide și cerebrozide sînt implicate în specificitatea de grupă sanguină.

În cazuri patologice gangliozidul NAcGal—Gal — Glu — Ceramid (codificat GM_2) se acumulează în creier, datorită unei deficiențe genetice (lipsa enzimei necesare degradării lui).

Sulfatide. Sulfatidele sînt lipide cu structură asemănătoare cu a cerebrozidelor. Spre deosebire de acestea ele conţin în moleculă şi acid sulfuric, sub formă de ester al ozei respective. Sulfatidele au mai fost denumite şi *sulfocerebrozide*. Structura unei sulfatide este următoarea:



Sulfatidă
(esterul 3-sulfuric al galactocerebrozidei)

Restul de acid sulfuric legat esteric în poziţia 3 a glucidului, imprimă acestor substanţe un caracter acid.

În structura sulfatidelor predomină acizii cerebronic şi lignoceric; mai rar sînt întîlniţi şi acizii palmitic, oleic şi stearic.

Sulfatidele se găsesc alături de cerebrozide (dar în cantităţi mai mici), reprezentînd circa 2—4 mg/g din substanţa umedă; au fost identificate în mitocondrii, nucleu, microzomi, sinapse şi în structura unor membrane specializate.

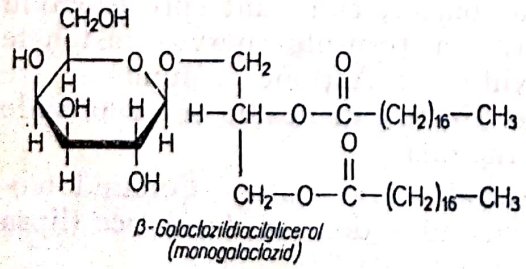
În afară de sulfatidele propriu-zise la unele organisme animale se mai întîlnesc în cantităţi foarte mici şi alte lipide cu sulf: sulfonolipide (sulful se află sub formă de acid sulfonic) şi halogensulfatide (sulfatide care conţin în molecula lor halogeni, mai frecvent atomi de clor).

3.4.3. ALTE LIPIDE COMPLEXE

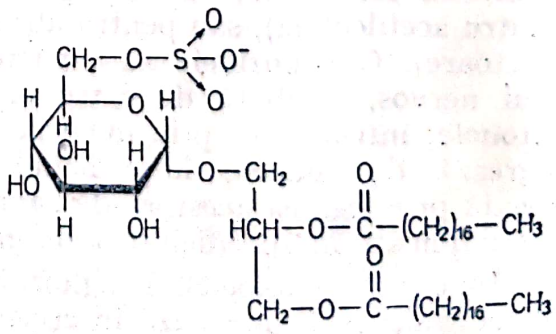
În acest grup de substanţe se vor include o serie de lipide complexe, cu structură oarecum diferită de a celor descrise anterior.

Glicozildiacilglicerolii şi sulfoglicozildiacilglicerolii sînt substanţe care se găsesc în plantele verzi, alge şi în bacteriile fotosintetizante; se întîlnesc mai ales în membranele lamelare ale cloroplastelor. S-a emis ipoteza că aceste lipide îndeplinesc un rol de substanţe de rezervă pentru glucide.

Structura unor astfel de lipide complexe este următoarea:

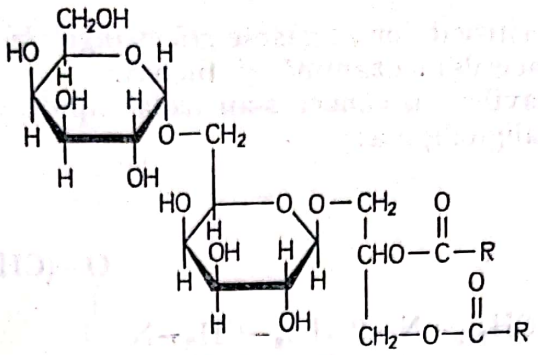


β-Galactozildiacilglicerol
(monogalactozid)



Sulfoglicozildiacilglicerol

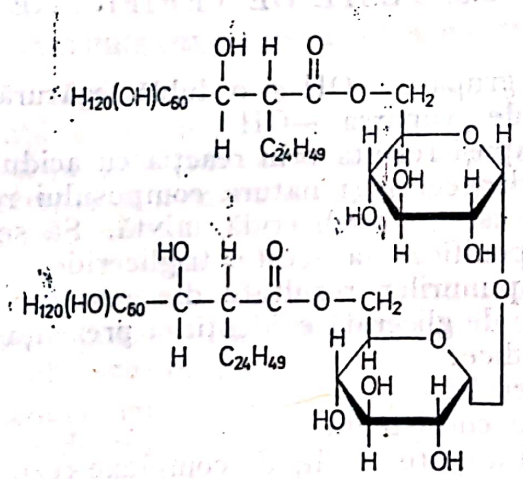
Se întîlnesc și *diglicozildiacilgliceroli:*



Digalactozildiacilglicerol (digalactozid)

La microorganisme au mai fost identificate și glicozildiacilgliceroli cu manoză sau micști, cu glucoză și galactoză. Glicozildiacilglicerolii au o răspîndire mare la bacteriile Gram pozitive.

La microorganisme sînt întîlnite și lipide care sînt esteri ai acizilor grași cu glucide. De exemplu din *Mycobacterium phlei* a fost extras diesterul trehalozei cu acidul micolic, substanță foarte toxică, numită și „cord factor", care are următoarea structură:



α,α-Trehaloză-6,6'-dimicolat

Acest diester este responsabil de virulența diferitelor tulpini ale microorganismului respectiv.

La *Enterobacteriaceae* a fost pusă în evidență și prezența unor lipopoliglucide, cu acțiune de antigeni specifici de suprafață; sînt folosite drept criteriu imunologic în clasificarea acestor microorganisme. Aceste lipopoliglucide sînt responsabile pentru activitatea endotoxinelor; structura lor nu este pe deplin elucidată.

Mc Kibbin, în 1970, le-a schematizat astfel:

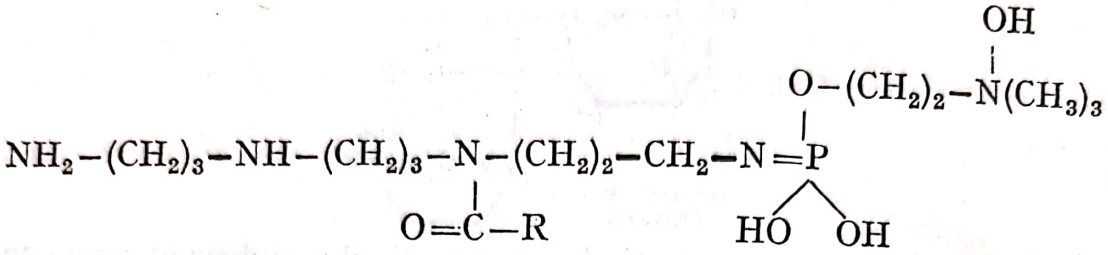
3,6-dideoxi-D-xilohexoză Manozil-Ramnozil-Galactozil-	D-Galactoza D-Glucoza 2-Acetamido-2-deoxi-D-glucoza	Fosfat Heptoză Acid 3-deoxi-D--mano-octulozonic Etanolamina	Lipid A
O — antigenul specific (cel menționat este O-antigenul de la *Salmonella typhimurium*)	Structura de bază		Componenta lipidică

Scanned with OKEN Scanner

De asemenea, au fost izolate, din unele microorganisme, lipide care conțin legături C—P.

În membranele eritrocitelor se găsesc *glicosfingolipide*, care conțin N-acetilgalactozamină, N-acetilglucozamină și fucoză.

Din sîngele bolnavilor cu cancer s-au izolat lipide complexe cu legătură P — N. cum este malignolipina:



Malignolipină

Problema elucidării structurii și a rolului fiziologic și biochimic al unor lipide complexe rămîne deschisă cercetătorilor.

3.5. TESTE DE VERIFICARE

1. Colesterolul are o grupare —OH și o dublă legătură. Să se indice:
   a) reacția dată de gruparea —OH
   b) ce tip de compuși rezultă prin reacția cu acidul stearic
   c) reacția de hidrogenare și natura compusului rezultat
2. Stearodipalmitina este o trigliceridă mixtă. Să se indice:
   a) reacția de saponificare a acestei trigliceride
   b) denumirea săpunurilor rezultate din reacție
3. Analiza unei probe de gliceridă evidențiază prezența acizilor stearic, oleic și palmitic. Să se indice:
   a) structura gliceridei
   b) gradul său de consistență
4. Prin hidroliza unui amestec de lipide complexe rezultă următorii produși:
   — glicerol, acid palmitic, colină, acid ortofosforic
   — glicerol, acid stearic, acid oleic, acid ortofosforic
   — sfingozină, acid lignoceric, fosforilcolină
   — sfingozină, acid lignoceric, β-galactoză

   Să se stabilească structurile chimice ale lipidelor corespunzătoare și denumirea acestor lipide.
5. Se dau următoarele tipuri de lipide: oleodistearina, fosfatidilcolamina și sfingomielina. Să se indice:
   a) structurile chimice ale acestor lipide
   b) localizarea lor în diferite țesuturi.

Scanned with OKEN Scanner

4

PROTIDE

4.1. CONSIDERAȚII GENERALE

4.1.1. CARACTERIZAREA GENERALĂ A PROTIDELOR

Protidele reprezintă componente chimice primordiale ale materiei vii care — prin structura și proprietățile lor — definesc esența vieții, constituind baza materială a existenței și a manifestărilor specifice ale acesteia. Protidele se caracterizează prin următoarele *trăsături definitorii:*

— reprezintă *purtătorii materiali ai vieții;* constituienți universali și indispensabili ai tuturor formelor de viață, protidele asigură organizarea și menținerea structurii morfologice a celulelor, precum și manifestarea funcțiilor și activităților vitale ale acestora;

— sînt *biomacromolecule* cu un spectru larg de mase moleculare cuprinse între 5 000 și cîteva sute de mii; ca macromolecule, protidele sînt constituite din unități monomere cu masă moleculară mică denumite *aminoacizi* care se unesc covalent unul cu altul prin condensare; deși prezintă structuri chimice și funcții biologice diferite, toate protidele au un *denominator* comun, fiind sintetizate din același grup mic de 20—22 de aminoacizi;

— sînt *biomacromolecule informaționale*, caracter conferit de varietatea structurală a aminoacizilor constituenți care reprezintă unități repetitive distincte ale structurii acestor macromolecule;

— se află într-o strînsă *interdependență cu acizii nucleici;* informația genetică stocată în ADN determină biosinteza diferitelor tipuri de protide, dintre care unele participă — în calitate de enzime — la biosinteza acizilor nucleici; relația protide — acizi nucleici constituie axa centrală a întregii biologii;

— prezintă *proprietăți fizico-biochimice* caracteristice, care sînt o consecință a organizării structurale, și respectiv a conformației spațiale a macromoleculelor ce determină funcțiile lor biologice;

— secvența, respectiv aranjamentul sau dispunerea aminoacizilor în structura macromoleculelor de protide este *factorul comun* care controlează

Scanned with OKEN Scanner

și definește individualitatea structurală și funcțională a diferitelor tipuri de protide;

— prezintă un *înalt grad de organizare structurală* și posedă un surplus de energie liberă care le asigură atributele unui sistem dinamic în permanentă activitate cu sistemele chimice ambiante;

— manifestă un *puternic dinamism* caracterizat printr-o continuă *autoreînnoire* ca rezultat al proceselor de sinteză și degradare;

— au o *specificitate remarcabilă*, ca reflectare a particularităților structurale și conformaționale care le conferă funcții biochimice variate;

— se prezintă într-o extrem de *largă diversitate* de tipuri diferite structural și funcțional.

4.1.2. FUNCȚIILE PROTIDELOR

Protidele îndeplinesc funcții extrem de variate, ca reflectare a unui înalt grad de organizare structurală și de specializare. Astfel:

— constituie *suportul chimic structural și funcțional* al materiei vii și al tuturor fenomenelor specifice acesteia;

— sînt componente plastice ubicvitare ale organismelor vii, participînd direct la *edificarea și menținerea structurii* tuturor celulelor, a formațiunilor infracelulare și a biomembranelor;

— protidele din hrană servesc ca *sursă primară de aminoacizi* din care se sintetizează proteinele celulare proprii;

— sînt *purtătorul material* al tuturor însușirilor biologice: diferențierea, creșterea, dezvoltarea și reproducerea;

— în calitate de enzime, protidele îndeplinesc un *rol catalitic*, înlesnind desfășurarea, coordonarea și reglarea tuturor reacțiilor chimice de sinteză și de degradare care asigură activitatea complexă a fiecărei celule;

— exercită *funcție represoare*, participînd la reglarea expresiei genelor în cromozomi;

— unele proteine (peptide) pot acționa ca *hormoni*, participînd la reglarea reacțiilor biochimice;

— acționează ca *pigmenți respiratori*, transportînd pe cale sanguină la țesuturi oxigenul molecular (hemoglobina) sau depozitînd oxigenul (mioglobina); participă, de asemenea, în transportul enzimatic al electronilor (citocromi);

— intervin în procesul de *coagulare* a sîngelui, precum și în *digestia* gastrointestinală a hranei, cu formare de molecule de talie mică;

— participă ca substanțe cu *rol contractil*, în procesul contracției musculare (actina, miozina, actomiozina);

— se comportă ca *anticorpi*, participînd la procesele imunochimice de apărare a organismelor superioare contra unor agresiuni externe;

— acționează ca substanțe de *susținere*, de *protecție* și de *rezistență mecanică* (keratina din unghii, copite și păr, elastina vaselor sanguine, colagenul tendoanelor, fibroina din mătase);

— participă la *ultrastructura biomembranelor* în asociere cu lipidele;

— îndeplinesc diferite roluri *fizico-chimice*, intervenind în procesele de permeabilitate selectivă a biomembranelor, în transportul apei, ionilor anorganici și al diferitelor substanțe organice, în menținerea echilibrului acido-bazic funcționînd ca sisteme tampon etc.

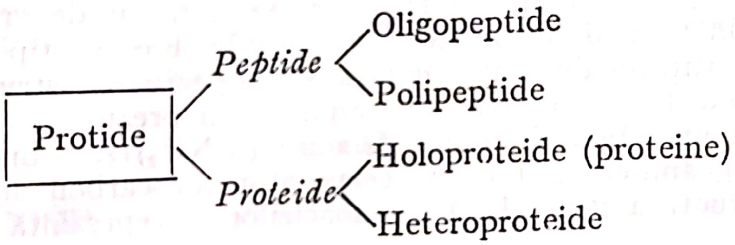
Scanned with OKEN Scanner

4.1.3. CONSTITUȚIA CHIMICĂ GENERALĂ ȘI CLASIFICAREA PROTIDELOR

Compoziția chimică elementară a majorității protidelor este similară; toate sînt substanțe cel puțin cuaternare, conținînd C, O, H și N; altele conțin în mod frecvent și S și/sau P, iar altele și metale ca: Fe, Cu, Mg etc. Distribuția procentuală medie a principalelor elemente chimice din protidele animale este următoarea: C = 50—55%; O = 20—23%; H = 6—8%; N = 15—17%; S = 0—4%;

Conținutul mediu în azot al celor mai multe protide este de 16%; prin determinarea experimentală a conținutului în N al diferitelor produse biologice, se poate estima cantitatea de protide (P) existentă în aceste produse prin multiplicarea conținutului de N% determinat cu factorul 6,25 (100: 16 = = 6,25). Deci: $P\% = N\% \cdot 6{,}25$.

Unitatea structurală de bază a protidelor o reprezintă *aminoacizii* (R—CH(NH$_2$)—COOH); în consecință, prin hidroliză chimică (acidă, bazică) sau enzimatică orice protidă eliberează aminoacizi. În funcție de numărul aminoacizilor constituenți, ca și a existenței unor compuși de altă natură care pot intra în structura anumitor protide, acestea se clasifică astfel:



Peptidele sînt constituite dintr-un număr relativ restrîns de aminoacizi: *oligopeptidele* conțin în structura lor pînă la 10 aminoacizi, iar *polipeptidele* rezultă din condensarea unui număr superior de aminoacizi.

Proteidele reprezintă ansambluri macromoleculare rezultate din condensarea unui număr mare de aminoacizi și posedă mase moleculare ridicate.

Holoproteidele — denumite în mod curent *proteine* — sînt constituite numai din aminoacizi.

Heteroproteidele au o structură complexă, conținînd pe lîngă aminoacizi și o componentă neproteică denumită *componentă prostetică;* heteroproteidele sînt astfel *proteine conjugate*. Componenta sau gruparea prostetică poate fi de natură chimică diferită (glucide, lipide, acizi nucleici, nucleu porfirinic, metale) și asocierea ei la componenta proteică propriu-zisă conferă heteroproteidei proprietăți și funcții biochimice specifice.

4.1.4. DISTRIBUȚIA PROTIDELOR

În organismul animal, protidele se prezintă într-o mare varietate de tipuri structurale care diferă în funcție de organ și de specie; protidele sînt astfel *organo-specifice* și *specie-specifice*.

Distribuția procentuală a protidelor (raportată la masa corporală) pentru diferite specii este următoarea: *suine* = 15,0%, *ovine* = 16,1%, *bovine* = = 16,8%, *cabaline* = 17,0%, *păsări* = 21,0%.

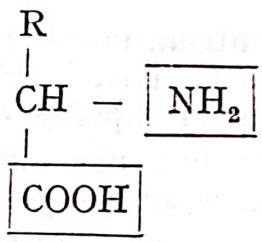
Țesuturile cu conținutul cel mai ridicat în protide sînt: pielea (25%), mușchiul (23%) și ficatul (22%); țesutul cerebral conține protide în cantitate mai redusă (10%).

4.2. AMINOACIZI

4.2.1. STRUCTURĂ GENERALĂ ȘI CLASIFICARE

Aminoacizii reprezintă *unitățile chimice de bază* care intră în alcătuirea structurii protidelor. Deși în natură se cunosc aproximativ 200 de aminoacizi, totuși organismele utilizează un număr restrîns de aminoacizi pentru biosinteza diferitelor tipuri de protide. Astfel, la edificiul structural al protidelor participă frecvent numai 20—22 de aminoacizi.

Structura fiecărei protide se caracterizează printr-un număr finit și variabil de aminoacizi. Diversitatea enormă a tipurilor de protide este determinată de natura diferită a aminoacizilor constituienți, de numărul și proporția în care aceștia participă la structura moleculelor de protide, precum și de ordinea înlănțuirii lor în aceste molecule. Fiecare tip de aminoacid reprezintă o entitate distinctă datorată compoziției și structurii chimice caracteristice; cu toate acestea, toți aminoacizii prezintă ca trăsătură comună existența unei *funcții amină primară* ($-NH_2$) și a unei *funcții carboxil* ($-COOH$), ambele grefate la același atom de carbon denumit carbon $-\alpha$. Astfel, structura generală a aminoacizilor se reprezintă astfel*):



Toți aminoacizii care intră în structura protidelor sînt *α-aminoacizi*. Diferențierea aminoacizilor este determinată însă de natura radicalului R. Acest radical constituie catena laterală a fiecărui aminoacid, prin opoziție cu componenta structurală comună $H_2N-CH-COOH$ denumită *catenă principală*.
|
În funcție de particularitățile structurale ale radicalului R (aciclic sau ciclic, prezența altor grupări chimice funcționale), aminoacizii se clasifică după cum se indică în tabelul 4—1.

---

* Excepție face prolina (și derivatul său hidroxiprolina) care este un *iminoacid* de tipul $HN-CH-COOH$
\ /
R

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 4—1

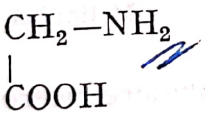
Clasificarea aminoacizilor

- AMINOACIZI
  - *Aciclici*
    - Monoaminomonocarboxilici
    - Monoaminomonocarboxilici cu grupare alcool (hidroxiaminoacizi)
    - Monoaminomonocarboxilici cu sulf (tioaminoacizi)
    - Monoaminodicarboxilici
    - Diaminomonocarboxilici
  - *Ciclici*
    - Homeociclici
    - Heterociclici

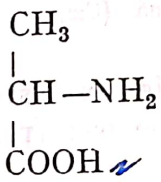
4.2.2. STRUCTURA CHIMICĂ A AMINOACIZILOR CONSTITUIENȚI AI PROTIDELOR NATURALE

4.2.2.1. AMINOACIZI ACICLICI

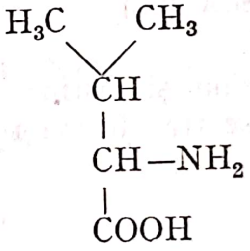
Aminoacizi monoaminomonocarboxilici. Sînt aminoacizi simpli, conținînd o singură grupare amină și o singură grupare carboxil; catenele laterale (R) sînt nepolare, hidrofobe, manifestă o solubilitate redusă în apă și prezintă afinitate pentru radicali de aceeași natură:



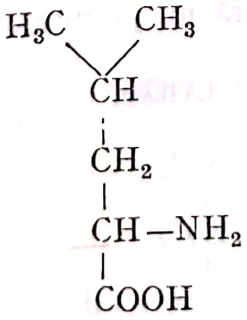
Glicocol (Gli)*



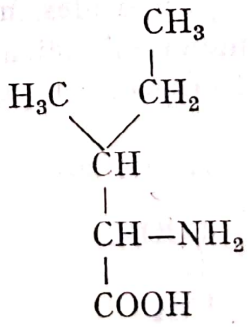
Alanină (Ala)



Valină (Val)



Leucină (Leu)

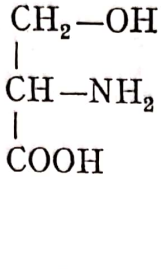


Izoleucină (Ile)

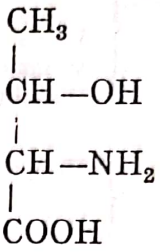
* Aminoacizii se prescurtează prin indicarea primelor *trei litere* (cu unele excepții) din denumirea respectivă.

Scanned with OKEN Scanner

Aminoacizi monoaminomonocarboxilici cu grupare alcool (hidroxiaminoacizi). Gruparea alcool fiind puternic hidrofilă conferă acestor aminoacizi o mare solubilitate în apă:

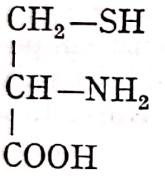


Serină (Ser)

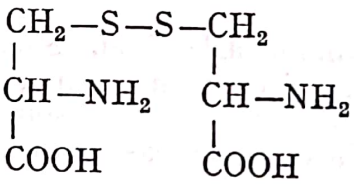


Treonină (Tre)

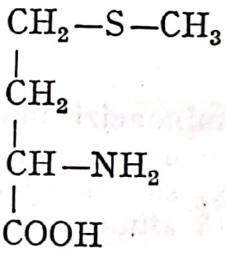
Aminoacizi monoaminomonocarboxilici cu sulf (tioaminoacizi). Conțin în moleculă elementul sulf sub formă de grupare tiol (—*SH*), de grupare disulfidică (disulfură) (—S—S—) sau de grupare tioeter (—*S*—*CH*$_3$):



Cisteină (Cis)



Cistină (Cis_2)



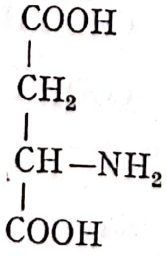
Metionină (Met)

Cisteina și cistina constituie un sistem de oxidoreducere reversibil, putîndu-se transforma reciproc pe baza reacției:

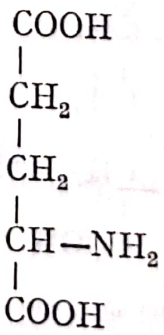
$$Cis—SH \underset{+2H}{\overset{-2H}{\rightleftharpoons}} Cis—S—S—Cis$$

Scleroproteinele unor țesuturi animale (piele, păr, unghii, copite) sînt bogate în cisteină și, mai ales, în cistină.

Aminoacizi monoaminodicarboxilici. Conțin în molecula lor o a doua grupare carboxil (—COOH), fapt ce le conferă un pronunțat caracter acid:



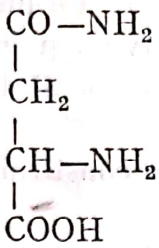
Acid aspartic (Asp)



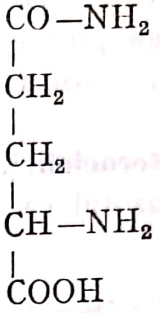
Acid glutamic (Glu)

Scanned with OKEN Scanner

Înrudite structural cu acidul aspartic și acidul glutamic sînt *amidele* acestora, și anume asparagina și glutamina:



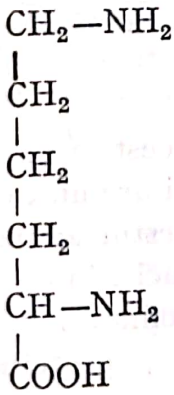
Asparagina (Asn)



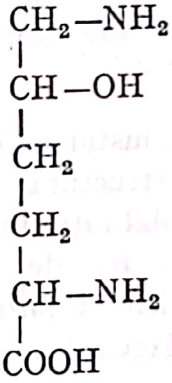
Glutamina (Gln)

Asparagina și glutamina sînt considerate ca aminoacizi care intră în constituția diverselor proteine.

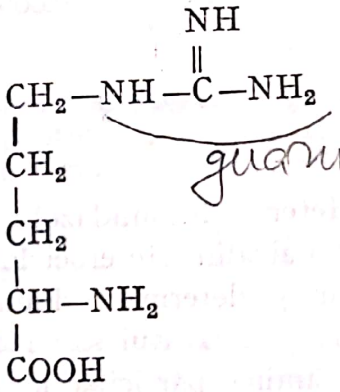
Aminoacizi diaminomonocarboxilici. Prezența unei a doua funcțiuni amină în molecula acestor aminoacizi le conferă un caracter bazic și o creștere a gradului de solubilitate:



Lizina (Lis)



Hidroxilizina (Lis—OH)

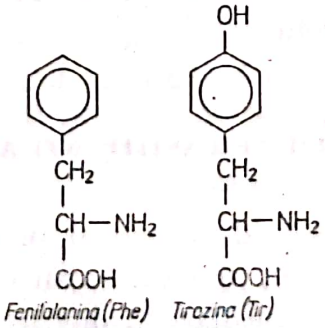


Arginina (Arg)

Hidroxilizina are o răspîndire restrînsă, ea găsindu-se numai în structura proteinelor țesutului conjunctiv (colagen și gelatină).

4.2.2.2. AMINOACIZI CICLICI

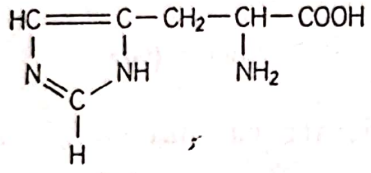
Aminoacizi homeociclici. Conțin în molecula lor un nucleu benzenic și respectiv fenolic:



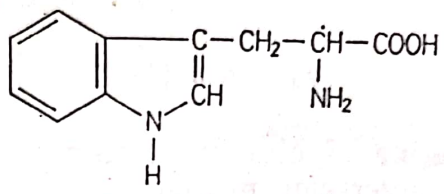
Fenilalanina (Phe) Tirozina (Tir)

Deși acești aminoacizi prezintă analogie structurală, catena laterală a fenilalaninei este apolară, pe cînd cea a tirozinei este polară și chiar ionizabilă datorită grupării — OH cu caracter fenolic. Pe lîngă participarea lor la structura diverselor protide, fenilalanina intervine și în biogeneza hormonilor tiroidieni, iar tirozina este și un precursor al hormonilor medulosuprarenali.

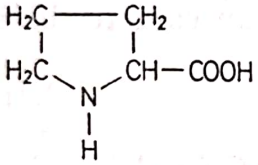
Aminoacizi heterociclici. Radicalul R este constituit dintr-un heterociclu care conține azotul ca heteroatom:



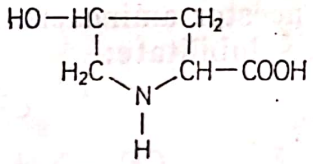
Histidină (His)



Triptofan (Trp)



Prolina (Pro)



Hidroxiprolina (Pro - OH)

ciclu pirolidinic

Heterociclul imidazol din structura histidinei îi conferă acesteia un caracter slab alcalin. Heterociclul indol din structura triptofanului are un caracter nepolar și determină diminuarea solubilității în apă a acestui aminoacid. Prolina și derivatul său hidroxiprolina sînt, de fapt, iminoacizi în care gruparea amină participă la formarea ciclului pirolidinic. Prolina și hidroxiprolina predomină în structura colagenului și gelatinei, proteine ale țesutului conjunctiv.

Aminoacizii constituienți ai protidelor naturale se pot clasifica însă și în funcție de caracterul pe care-l manifestă catenele lor laterale (R), după cum urmează:

— *Aminoacizi cu catene apolare*: glicocol, alanina, valina, leucina izoleucina, metionina, fenilalanina, triptofanul:

— *Aminoacizi cu catene polare*: serina, treonina, cisteina, asparagina glutamina, tirozina;

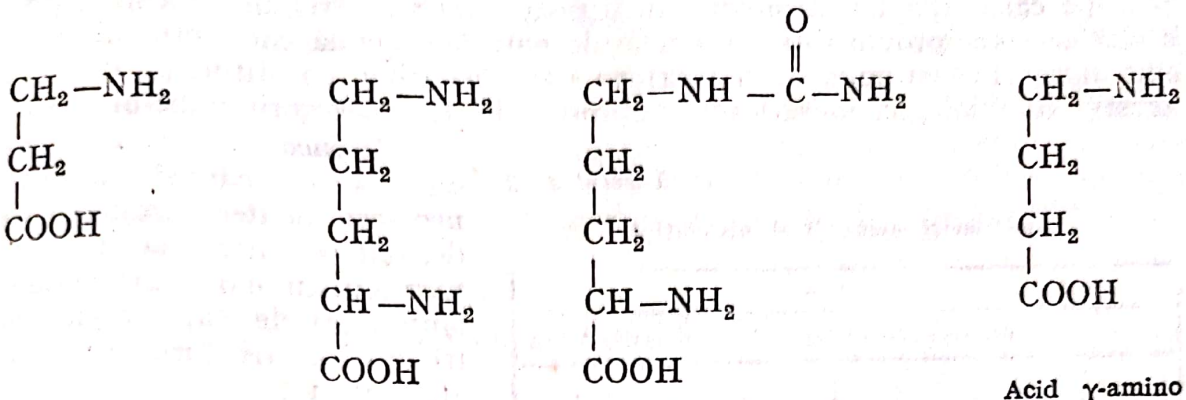
— *Aminoacizi cu catene ionizabile:* acidul aspartic, acidul glutamic lizina, arginina, histidina, prolina.

4.2.3. AMINOACIZI NECONSTITUENȚI AI PROTIDELOR

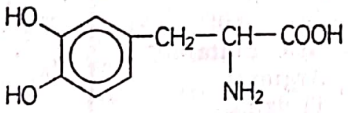
În organismul animal s-a identificat și prezența unor aminoacizi care nu intră în structura protidelor, însă care apar ca constituenți ai altor biomolecule sau ca produși intermediari în diferite reacții biochimice.

Scanned with OKEN Scanner

Exemple:



β-alanina | Ornitina (Orn) | Citrulina (Cit) | Acid γ-amino butiric (GABA)



Dihidroxifenilalanina (DOFA)

β-*Alanina* este un analog structural al α-alaninei, posedînd gruparea $-NH_2$ în poziția β; intră în constituția unor dipeptide de origine animală (carnozina, anserina), precum și în constituția vitaminei denumită acid pantotenic.

Ornitina și *citrulina* sînt aminoacizi cu caracter bazic care se află în corelație cu arginina și care apar ca produși intermediari în ciclul ureogenezei prin care se formează ureea în organism.

Acidul γ-aminobutiric se află sub formă liberă în special în țesutul cerebral și rezultă din decarboxilarea acidului glutamic; acționează ca agent de blocare a sinapselor.

Dihidroxifenilalanina apare ca intermediar în biosinteza hormonilor medulosuprarenali, precum și în formarea pigmenților melaninici care au rol în pigmentarea pielii.

4.2.4. ROLUL BIOLOGIC AL AMINOACIZILOR. IMPLICAȚII ÎN ALIMENTAȚIA ANIMALELOR

Importanța fundamentală a aminoacizilor constă în participarea lor ca constituenți monomerici la edificarea moleculelor de protide. În orice celulă, aminoacizii există în stare liberă dizolvați în mediul citoplasmatic sau legați covalent între ei cu formare de peptide și proteine. Diferiții aminoacizi existenți sub formă liberă în citoplasmă îndeplinesc anumite roluri metabolice. Astfel: acidul aspartic și acidul glutamic stabilesc corelații metabolice între glucide și protide, metionina funcționează ca donator de grupări $-CH_3$, glicocolul este un precursor al biosintezei hemului din hemoglobină, acidul glutamic constituie un intermediar în detoxifierea amoniacului la mamifere etc.

Biosinteza protidelor proprii, specifice organismului animal, este direct corelată cu aportul de aminoacizi exogeni, proveniți pe cale alimentară. Organismul animal nu poate sintetiza decît aproximativ jumătate din setul

Scanned with OKEN Scanner

de aminoacizi necesari pentru biosinteza protidelor proprii. Restul de aminoacizi pe care organismul animal nu îi poate sintetiza trebuie procurați prin hrană; aceștia provin din proteinele de natură vegetală care, prin digestie, sînt hidrolizate cu punerea în libertate a aminoacizilor constituenți. Pe baza acestui rol biologic, aminoacizii se grupează în două categorii (tabelul 4—2):

Tabelul 4—2

Aminoacizi esențiali și neesențiali

Aminoacizi	
Esențiali	Neesențiali
Valină	Glicocol
Leucină	Alanină
Izoleucină	Serină
Treonină	Cisteină
Metionină	Acid aspartic
Lizină	Acid glutamic
Fenilalanină	Arginină
Triptofan	Tirozină
	Prolină
	Hidroxiprolină
	Histidină

Aminoacizi esențiali (indispensabili), care sînt absolut necesari pentru creșterea și dezvoltarea normală a organismului animal și care nefiind sintetizați de către organism trebuie să fie furnizați prin alimentație;

Aminoacizi neesențiali (dispensabili), care pot fi sintetizați de către organismul animal și, în consecință, pot lipsi din hrană.

Între diferiții aminoacizi există anumite corelații nutriționale și funcționale, care, la nivelul organismului, se pot manifesta sub forma unei acțiuni sinergice, antagonice sau de suplinire a unor aminoacizi prin alții. Exemple: fenilalanina se poate transforma în tirozină pe care dealtfel o poate suplini; metionina poate genera cisteină (cistină) și astfel lipsa acesteia este suplinită prin metionină; insuficiența triptofanului determină o creștere a concentrației fenilalaninei, treoninei și leucinei; o concentrație crescută în lizină determină necesități sporite de metionină, arginină și histidină, după cum un surplus de lizină — corelat cu un aport insuficient de histidină — induce o întîrziere în creșterea animalelor tinere, cu repercusiuni asupra biosintezei proteinelor tisulare etc. Rezultă astfel că performanțele animalelor de producție și implicit biosinteza proteinelor proprii sînt dependente de existența în „pool"-ul metabolic a unui nivel optim și a unor raporturi bine echilibrate de aminoacizi esențiali.

Carența în anumiți aminoacizi prin aport alimentar se manifestă printr-o simptomatologie complexă. Astfel: carența în lizină determină încetinirea creșterii și tulburări de reproducție; carența în triptofan este asociată cu tulburări vasculare și modificarea tabloului leucocitar; carența în tirozină și fenilalanină provoacă atrofia tiroidei, hipofizei, gonadelor și prostatei; carența în tioaminoacizi induce atrofia testiculelor, degenerarea ovarelor, sterilitate; arginina, deși intră în categoria aminoacizilor neesențiali, este absolut necesară creșterii organismului tînăr care nu o poate sintetiza în suficientă cantitate etc.

Alimentația animalelor trebuie să fie *completă și echilibrată în aminoacizi*, respectiv în proteine cu valoare alimentară completă. De exemplu, o hrană constituită aproape exclusiv pe bază de proteine din făina de porumb produce dezechilibre nutriționale și dereglări fiziologice datorită lipsei din aceste proteine a lizinei și a cantității scăzute de triptofan, ambii aminoacizi esențiali. Insuficiența unui singur aminoacid esențial afectează biosinteza proteinelor proprii ale organismului, iar deficitul în unii aminoacizi se repercutează negativ asupra performanțelor animalelor de producție. De

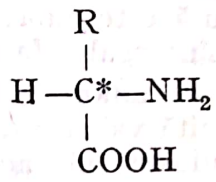
Scanned with OKEN Scanner

aceea, alimentația animalelor implică o cunoaștere precisă a calității fiecărei surse de proteină, a nivelului proteic optim al rației, precum și a valorii aminoacidului limitativ, care sînt factori determinanți pentru asigurarea echilibrului în aminoacizi și utilizarea eficientă a acestora de către organism. O nutriție proteică optimală implică existența unui echilibru între aminoacizii esențiali. Echilibrarea rației proteice în aminoacizi cu asigurarea unui nivel optim al acestora se realizează prin suplimentarea nutreturilor proteice de origine vegetală cu aminoacizi de sinteză sau cu proteine de origine animală.

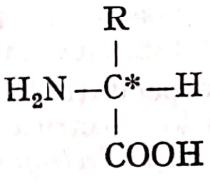
4.2.5. PROPRIETĂȚI FIZICO-CHIMICE ALE AMINOACIZILOR

a) Cu excepția glicocolului, atomul de carbon α (adiacent funcției carboxil) din structura aminoacizilor este asimetric, fiind atașat tetraedric la patru atomi sau grupe de atomi structural distincte. În consecință, aminoacizii prezintă *activitate optică*, formele stereoizomere optic active distingîndu-se numai prin orientarea spațială a grupărilor atașate la carbonul α și prin capacitatea lor de a roti planul luminii polarizate.

b) În raport cu orientarea grupării $-NH_2$ față de carbonul α, aminoacizii se prezintă în două configurații spațiale denumite *D* și *L*:



D-α-aminoacid

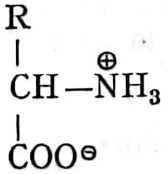


L-α-aminoacid

Aminoacizii naturali prezenți în structura protidelor aparțin numai formei L** (aminoacizi aparținînd formei D au fost identificați numai în unele peptide din antibiotice, în peretele celulelor bacteriene și în proteine din țesuturile tumorale). Configurația sterică a aminoacizilor este independentă de activitatea lor optică, atît L — aminoacizii cît și D — aminoacizii putînd fi dextrogiri (+) sau levogiri (−).

c) Datorită polarității lor ($-COO^-$, $-NH_3^+$), aminoacizii sînt solubili în mediu apos și puțin solubili în solvenți organici. Gradul de solubilitate în apă este însă foarte diferit, în funcție de natura radicalului R și de *p*H-ul soluției; cistina și tirozina nu sînt solubile în apă, însă solubile în soluții diluate de HCl.

d) Aminoacizii sînt substanțe ionizabile cu caracter *amfoter*. În soluție, aminoacizii se comportă ca *amfiioni* sau *ioni bipolari* datorită disocierii grupărilor funcționale carboxil și amină.



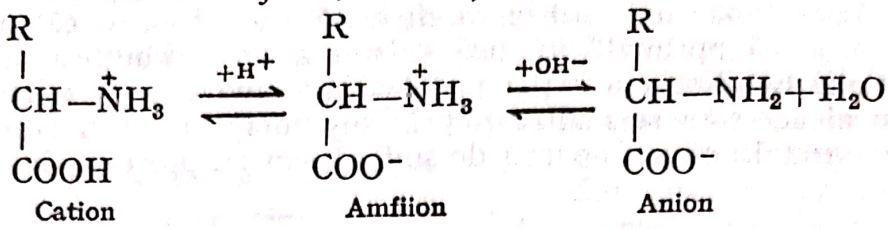
Amfiion (ion bipolar)

* Atom de carbon asimetric.

** Din motive didactice, formulele α-aminoacizilor se scriu — în mod curent — cu gruparea $-NH_2$ orientată spre dreapta.

Scanned with OKEN Scanner

La pH-ul fiziologic, ca și în stare cristalină, aminoacizii prezintă o astfel de structură amfiionică. În funcție de pH, aminoacizii pot exista în soluție apoasă sub trei forme: *amfiion*, *cation* și *anion*:



Cation Amfiion Anion

Datorită caracterului lor amfoter, aminoacizii se comportă în mediu acid (H^+) ca baze — disociind sub formă de cationi, iar în mediu bazic (OH^-) ca acizi—disociind sub formă de anioni. În cazul în care catenele laterale (R) ale diferiților aminoacizi conțin și alte grupări ionizabile decît cele atașate la carbonul α, sarcina netă a moleculei va reflecta prezența unor asemenea grupări disociabile. Astfel: datorită prezenței unei grupări — COOH adiționale, acizii aspartic și glutamic se comportă ca aminoacizi cu caracter acid; prezența unor grupări bazice suplimentare în molecula de arginină, lizină și histidină le conferă caracterul de aminoacizi bazici; ceilalți aminoacizi pot fi considerați ca neutri.

Punctul izoionic se definește ca pH-ul pentru care sarcina electrică netă a moleculei de aminoacizi dizolvați în apa pură este nulă; la punctul izoionic, concentrațiile formelor anion și cation sînt egale: $[anion^-] = [cation^+]$.

e) Datorită capacității lor de a disocia ca anioni sau cationi, deci în funcție de sarcina lor electrică netă la o anumită valoare de pH, aminoacizii manifestă proprietăți *electroforetice*, deplasîndu-se sub acțiunea unui cîmp electric. Astfel, în mediu acid aminoacizii migrează spre catod, iar în mediu alcalin spre anod; la pH-ul izoelectric (pH$_i$), amfiionul nu indică nici o deplasare în cîmpul electric, atracția către catod sau anod compensîndu-se.

Punctul izoelectric (pH$_i$) se definește ca pH-ul la care aminoacidul nu migrează într-un cîmp electric; la pH$_i$ aminoacizii se află disociați ca anioni și cationi în proporții egale, iar solubilitatea lor este redusă datorită atracțiilor electrostatice dintre anionii și cationii existenți. Aminoacizii prezintă pH$_i$ diferite, deoarece catenele laterale ale unora dintre ei (aminoacizii polifuncționali) conțin grupări chimice suplimentare care ionizează. Astfel, aminoacizii monoaminodicarboxilici au pH$_i$ în zona acidă (pH$_i$ = = 3,0 — 3,2), pe cînd aminoacizii diaminomonocarboxilici în zona alcalină (pH$_i$ = 7,5 — 11,0); aminoacizii monoaminomonocarboxilici au pH$_i$ în jur de 6,0 deoarece soluțiile lor sînt slab acide întrucît gruparea carboxil este mai puternic ionizată decît gruparea amină.

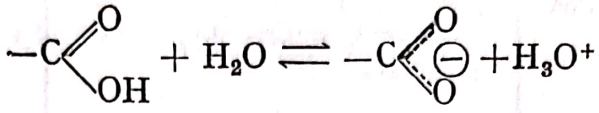
f) Anumiți aminoacizi (tirozină, fenilalanină, triptofan, histidină) conținînd în catena laterală nuclee cu duble legături conjugate prezintă *spectre de absorbție* caracteristice în ultraviolet, cu maxime de absorbție între 250—300 nm. Această proprietate stă la baza dozării proteinelor pe cale spectrofotometrică.

4.2.6. PROPRIETĂȚI CHIMICE ALE AMINOACIZILOR

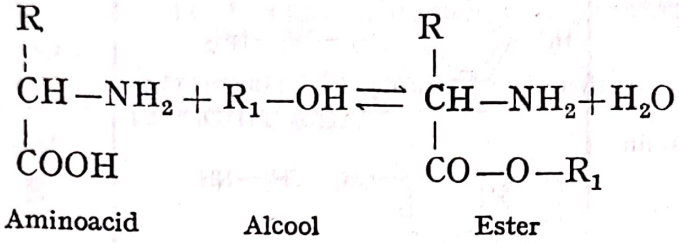
Reactivitatea chimică a aminoacizilor este determinată de prezența grupării — COOH, a grupării — NH_2, angajarea simultană în reacții a acestor două grupări chimice funcționale grefate la carbonul α, precum și de natura radicalului R care poate conferi proprietăți chimice specifice.

4.2.6.1. PROPRIETĂȚI DATORATE GRUPĂRII FUNCȚIONALE CARBOXIL

Gruparea carboxil se comportă ca un donator de proton (acid) sau ca acceptor (bază), fiind prezentă sub forma —COOH sau COO^-:

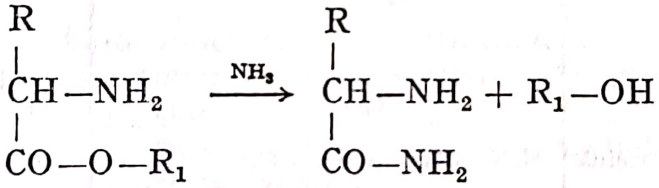


a) Aminoacizii reacționează cu alcooli (în mediu de HCl) formînd *esteri*:



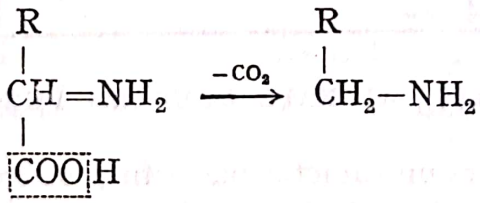
Aminoacid Alcool Ester

b) În prezență de amoniac în exces, esterul aminoacidului formează *amide*, cu eliberarea alcoolului:



Ester Amidă

c) Prin decarboxilare aminoacizii formează *amine*:



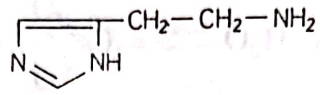
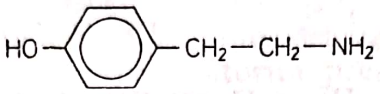
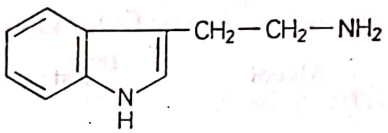
Aminoacid Amină

Amine biogene. În organismul animal, reacțiile de decarboxilare a aminoacizilor sînt catalizate de enzime denumite *aminoacid decarboxilaze* care aparțin clasei liazelor. Bacteriile intestinale și de putrefacție participă la transformarea aminoacizilor în amine primare corespunzătoare. Aceste amine produse în organism pe cale enzimatică poartă denumirea de *amine biogene*; unele dintre acestea sînt toxice, însă altele manifestă roluri importante în organism, exercitînd acțiuni farmacodinamice diferite sau constituind precursori ai unor coenzime, hormoni și vitamine. În tabelul 4—3 sînt prezentate cîteva exemple de amine biogene.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 4—3

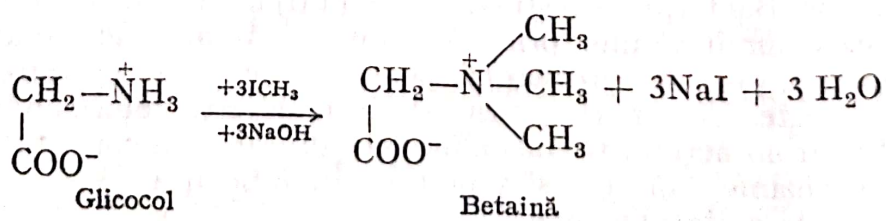
Exemple de amine biogene

Aminoacidul de origine	Amine biogene		
	Denumire	Formulă	Rol
Histidină	Histamină		— Vasodilatator — Stimulează secreția sucului gastric — Reglează tonusul fibrelor musculare netede — Implicată în reacțiile de tip alergic
Tirozină	Tiramină		— Antagonist al histaminei (hipertensiv) — Contracția uterului
Triptofan	Triptamină		— Hipertensiv
Cisteină	Cisteamină	$HS-CH_2-CH_2-NH_2$	— Componentă a coenzimei A (CoA—SH)
Acid aspartic	β-Alanină	$HOOC-CH_2-CH_2-NH_2$	— Componentă a CoA-SH, a acidului pantotenic (vitamină), a dipeptidelor carnozina și anserina
Ornitină	Putresceină	$H_2N-CH_2-(CH_2)_2-CH_2-NH_2$	— Diamină toxică prezentă în carnea alterată
Lizină	Cadaverină	$H_2N-CH_2-(CH_2)_3-CH_2-NH_2$	— Diamină toxică prezentată în carnea alterată — Hipertensiv

4.2.6.2. PROPRIETĂȚI DATORATE GRUPĂRII FUNCȚIONALE AMINĂ

Gruparea $-NH_2$ are un caracter nucleofil și se comportă ca un acceptor de protoni: $-\ddot{N}H_2 + H_3O^+ \rightleftharpoons NH_3^+ + H_2O$. Reactivitatea funcției amină este dependentă de *p*H.

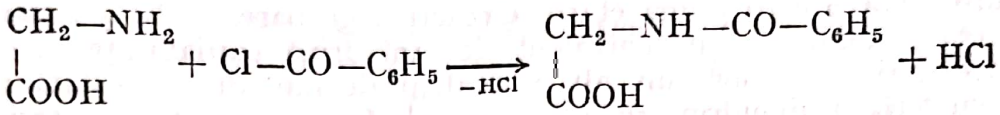
a) Aminoacizii se *alchilează* prin metilare în prezența iodurii sau sulfatului de metil, formînd derivați cuaternari: de exemplu, prin metilarea glicocolului se obține derivatul metilat denumit *betaină*:



Glicocol — Betaină

Betaina reprezintă un compus important pentru organism, deoarece furnizează grupări $-CH_3$ necesare în diferite reacții biochimice de sinteză.

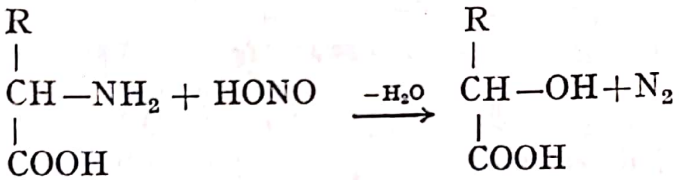
b) În prezența clorurilor acide, aminoacizii *se acilează* la gruparea $-NH_2$ cu formare de N—acil—derivați; de exemplu, prin tratarea glicocolului cu clorura de benzoil, în mediu alcalin, se formează *acidul hipuric*:



Glicocol — Clorură de benzoil — Acid hipuric

Acidul benzoic, ca produs toxic, este cuplat sub formă de acid hipuric și astfel eliminat pe cale renală. Acidul hipuric este un component frecvent în urina animalelor erbivore; în cantitate mare este prezent și în urina cabalinelor.

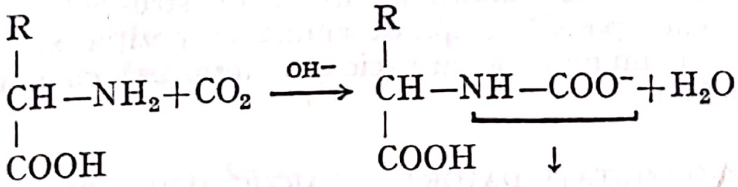
c) Aminoacizii *se deaminează* în prezența acidului azotos, punînd în libertate azot și generînd hidroxiacizi:



Aminoacid — Acid azotos — Hidroxiacid

Această reacție fiind stoichiometrică este utilizată pentru dozarea grupărilor $-NH_2$ (azotul α-aminic) din aminoacizi și din proteine, prin măsurarea gaz-volumetrică a azotului eliberat.

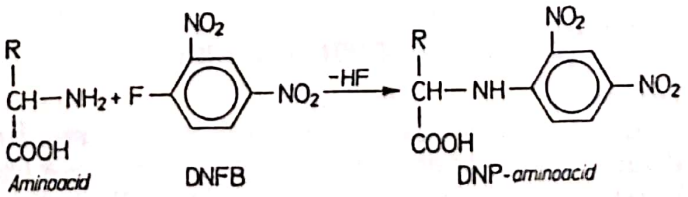
d) Aminoacizii reacționează prin gruparea $-NH_2$ cu dioxidul de carbon, formînd derivați cu *grupare carbamino:*



Aminoacid — Grupare carbamino

Importanța acestei reacții constă în faptul că CO_2 poate reacționa cu grupările amino din hemoglobină pentru a forma grupări carbamino și astfel este facilitat transportul CO_2 de la țesuturi la plămîni.

e) Aminoacizii reacționează cu 2,4—dinitrofluorbenzen (DNFB), formînd *dinitrofenil—aminoacizi* (DNP—aminoacid), derivați de culoare galbenă:

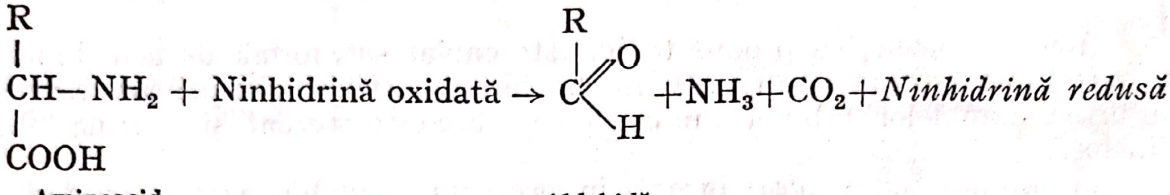


Aminoacid — DNFB — DNP-aminoacid

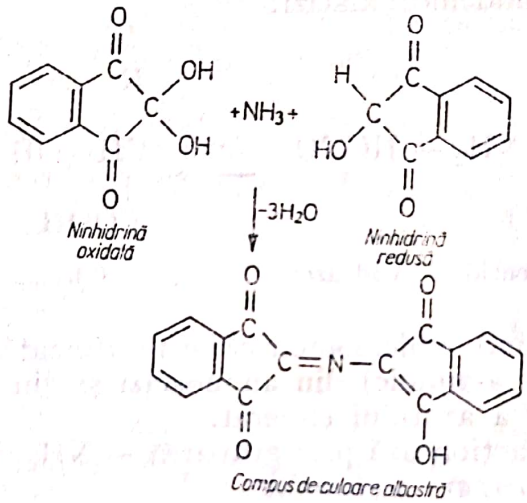
Scanned with OKEN Scanner

Această reacție este utilizată pentru identificarea aminoacizilor H_2N — terminali din structura polipeptidelor și proteinelor, constituind astfel un procedeu analitic de determinare a structurii acestora.

f) Aminoacizii reacționează prin gruparea $-NH_2$ cu *ninhidrina*, formînd produși colorați în albastru-violet. Această reacție este utilizată în scopuri analitice pentru identificarea cromatografică a aminoacizilor și determinarea lor cantitativă. Într-o primă etapă a reacției, gruparea $-NH_2$ a aminoacidului reacționează cu un echivalent de ninhidrină oxidată, punîndu-se în libertate NH_3; ulterior, un alt echivalent de ninhidrină oxidată reacționează cu NH_3 și ninhidrina redusă — ambele formate în etapa anterioară — pentru a produce compuși colorați în albastru-violet:



Aminoacid **Aldehidă**



Produșii de reacție colorați intens în albastru-violet sînt caracteristici aminoacizilor care posedă gruparea amină în poziția α; prolina și hidroxiprolina, care sînt amine secundare (ciclice), formează cu ninhidrina compuși colorați în galben.

4.2.6.3. PROPRIETĂȚI DATORATE PARTICIPĂRII CONCOMITENTE ÎN REACȚII A AMBELOR GRUPĂRI FUNCȚIONALE — COOH și $-NH_2$

a) Doi sau mai mulți aminoacizi reacționează între ei cu eliminare intermoleculară de apă între o grupare — COOH și o grupare $-NH_2$, re-

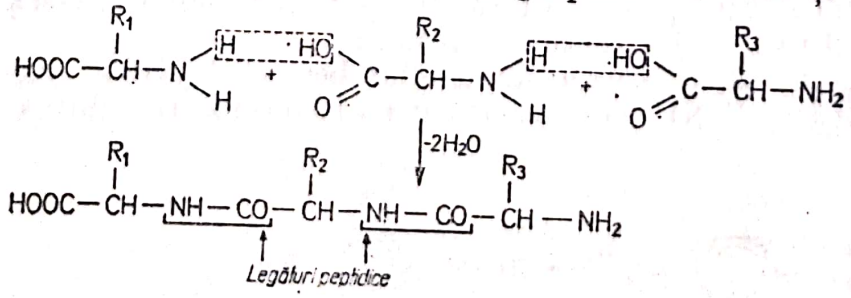
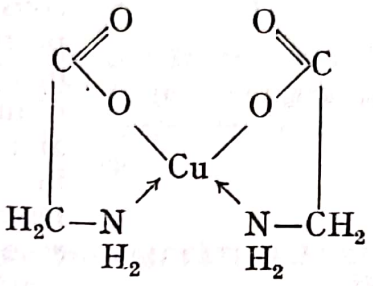
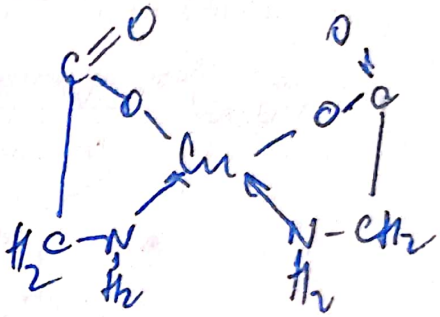


Fig. 4.1. Modul de formare a legăturilor peptidice.

zultînd dipeptide, tripeptide, tetrapeptide etc. Prin această reacție de condensare se formează *legături peptidice* — *CO* — *NH* — (amide substituite) care stau la baza structurii peptidelor, polipeptidelor și proteinelor (fig. 4.1).

b) α-Aminoacizii reacționează cu sărurile de cupru și, în general, cu săruri ale metalelor grele formînd combinații complexe denumite *chelați* (săruri interne). De exemplu, complexul glicocolului cu cuprul are următoarea structură:





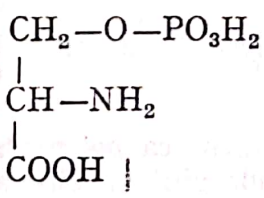
Aceste combinații complexe sînt stabile, greu solubile și colorate.

4.2.6.4. PROPRIETĂȚI DATORATE CATENELOR LATERALE (R)

— *Gruparea tiol* — *SH* din molecula cisteinei se poate oxida reversibil în mediu biologic cuplîndu-se cu o altă moleculă de cisteină pentru a forma o legătură disulfură (— S — S—), cu transformare în cistină:

$$2Cis—SH \underset{+2H}{\overset{-2H}{\rightleftharpoons}} Cis—S—S—Cis$$

— *Gruparea alcool* — *OH* din molecula de serină se poate fosforila (esterificare cu H_3PO_4), cu formare de fosforilserină; fosforilserina participă la structura proteinelor din lapte (cazeine) sau a unor enzime:



Fosforilserină

— În funcție de natura catenelor laterale (R), unii aminoacizi reacționează cu anumiți reactivi, formînd compuși specifici (colorați sau precipitate) care servesc la identificarea lor.

4.3. PEPTIDE

4.3.1. CARACTERIZARE GENERALĂ

Peptidele sînt substanțe naturale (sau sintetice) constituite dintr-un număr restrîns de aminoacizi care se condensează intermolecular la nivelul grupării α-carboxil a unui aminoacid și a grupării α — amină a altui amino-

Scanned with OKEN Scanner

acid, cu formarea de *legături peptidice*. Constituirea moleculelor de peptide se bazează, așadar, pe capacitatea aminoacizilor de a se lega *covalent* unul cu altul. Acest principiu de formare a peptidelor este ilustrat prin reacțiile prezentate în figura 4.2.

Structura și funcțiile peptidelor sînt determinate de secvența aminoacizilor constituenți, adică de modul de orînduire (legare) a acestora în molecula respectivă. În funcție de această secvență și de numărul de aminoacizi constituenți, peptidele se pot prezenta în diferite forme izomere posibile. De exemplu: o dipeptidă formată din doi aminoacizi diferiți se prezintă în două forme izomere; o hexapeptidă constituită din șase aminoacizi diferiți se prezintă în 720 forme izomere; o decapeptidă formată din 10 aminoacizi diferiți formează $3{,}6 \cdot 10^6$ izomeri etc. Posibilitatea existenței unei asemenea diversități de forme izomere explică enorma variabilitate structurală, configurațională și funcțională a diverselor tipuri de proteine care intră în alcătuirea organismului animal.

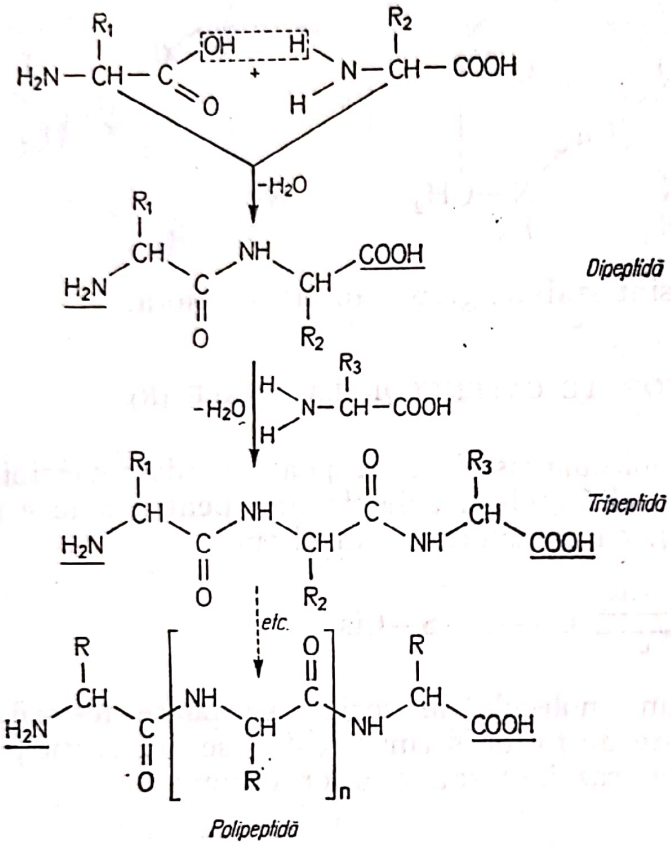


Fig. 4.2. Principiul de formare a oligo- și polipeptidelor.

Peptidele reprezintă compuși intermediari între aminoacizi și proteine. Peptidele constituite din doi pînă la zece aminoacizi inclusiv se definesc ca *oligopeptide* (dipeptide, tripeptide, tetrapeptide etc.); peptidele a căror structură este formată din zece pînă la o sută de aminoacizi se definesc ca *polipeptide*. Masa moleculară a peptidelor este de ordinul sutelor pînă la cîteva mii, iar cea a polipeptidelor poate atinge valori pînă la aproximativ $1 \cdot 10^4$.

Orice peptidă se caracterizează prin prezența legăturilor peptidice $-CO-NH-$ în care sînt angajate toate grupările carboxil și amină grefate la carbonul α, cu excepția unei grupări carboxil și a unei grupări amină care rămîn libere la capetele lanțului peptidic (polipeptidic). Aceste două grupări funcționale neimplicate în formarea legăturilor peptidice sînt denumite *grupări carboxil C-terminale* (aminoacid C-terminal) și respectiv *grupări amină N-terminale* (aminoacid N-terminal). Prin convenție, aminoacidul N-terminal dintr-un lanț peptidic, polipeptidic sau proteic se consideră ca fiind primul aminoacid (aa_1) din structura respectivă.

În context, nomenclatura chimică a peptidelor se stabilește prin indicarea succesivă a denumirii fiecărui aminoacid component al moleculei de oligopeptidă sau polipeptidă cu adăugarea sufixului „*il*"; excepție face numai aminoacidul C-terminal, care păstrează liberă gruparea — COOH și pentru

Scanned with OKEN Scanner

care se menține denumirea neschimbată. De exemplu, denumirea unei hexapeptide ipotetice cu structura:

$$N_2N - \underset{1}{Arg} - \underset{2}{Ala} - \underset{3}{His} - \underset{4}{Gli} - \underset{5}{Glu} - \underset{6}{Ala} - COOH$$

va fi următoarea: arginil — alanil — histidil — glicil — glutamil — alanină.

În mod curent, o serie de peptide sînt desemnate prin denumiri empirice, uzuale.

Ca origine, peptidele prezente în organism pot proveni fie prin biosinteză din aminoacizi — cum este în general cazul peptidelor cu funcții biologice — fie ca produși intermediari în procesele biochimice de degradare și de biosinteză a macromoleculelor proteice.

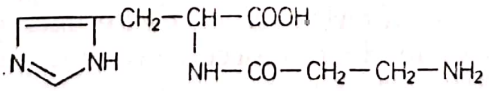
4.3.2. PROPRIETĂȚI GENERALE

Peptidele manifestă un caracter amfoter și formează săruri solubile cu acizii și bazele; sînt solubile în mediu apos, oligopeptidele formînd soluții propriu-zise, iar polipeptidele, dispersii coloidale. Peptidele constituite din cel puțin 3 aminoacizi reacționează — ca și proteinele — cu sărurile de cupru în mediu alcalin producînd o colorație albastră-violetă; această reacție denumită *reacția biuretului* este utilizată pentru identificarea și dozarea de peptide și proteine. Polipeptidele cu masă moleculară mai mare dau o serie de reacții similare proteinelor. Prin hidroliză acidă, peptidele sînt scindate în aminoacizii componenți; scindarea hidrolitică a unor peptide a căror structură include aminoacizi optic activi naturali este posibilă și în prezența enzimelor (peptidaze).

4.3.3. PEPTIDE NATURALE

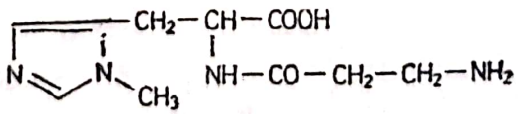
În organismul animal au fost identificate și caracterizate diferite peptide ce îndeplinesc importante funcții biochimice. Asemenea peptide prezintă grade de complexitate diferite, iar unele din ele se caracterizează printr-o structură ciclică. O serie de peptide au fost obținute și prin sinteză chimică, în mediu acelular.

Carnozina. Ca structură, este o *dipeptidă* constituită din histidină și β-alanină; este prezentă în mușchii mamiferelor și manifestă proprietăți hipotensive.



Carnozina (β-alanil histidina)

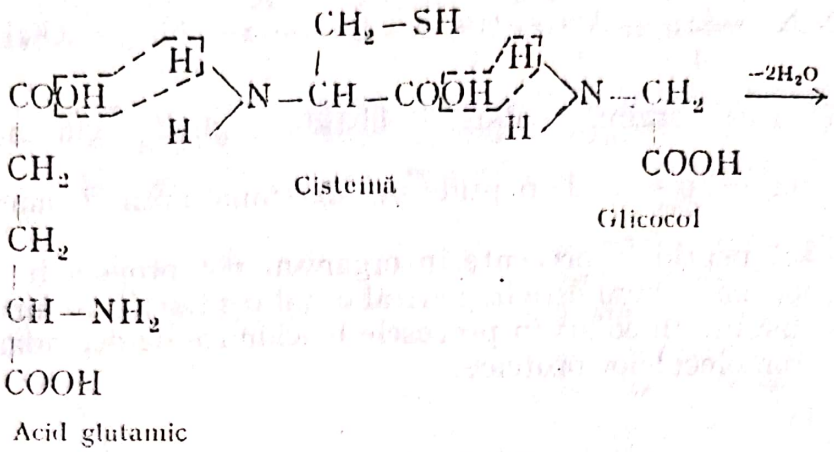
Anserina. Reprezintă un analog structural al carnozinei, fiind constituită din N-metil-histidină și β-alanină; se găsește în mușchii păsărilor.



Anserina (β-alanil N-metil-histidina)

Scanned with OKEN Scanner

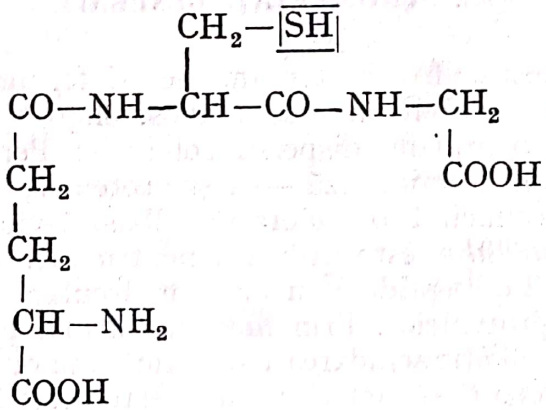
Glutationul. Este o *tripeptidă* a cărei structură este constituită din condensarea următorilor trei aminoacizi: acid glutamic, cisteină și glicocol:



Cisteină

Glicocol

Acid glutamic



Glutation (G—SH) (γ-glutamil-cisteinil-glicocol)

Glutationul se prezintă în două forme structurale distincte: *glutation redus* (G—SH) și *glutation oxidat* (G—S—S—G); glutationul oxidat provine din două molecule de glutation redus care se oxidează la nivelul grupării tiol (—SH) a cisteinei cu formarea grupării disulfurice caracteristică cistinei:

$$\underset{\text{Glutation redus}}{2\ G-SH} \xrightarrow{-2H} \underset{\text{Glutation oxidat}}{G-S-S-G}$$

Glutationul este ubicvitar răspîndit în materia vie, fiind considerat ca cea mai abundentă peptidă simplă. În organismul animal glutationul este distribuit în toate țesuturile, în cantități mai mari aflîndu-se în ficat (170 mg%) și splină (100 mg%); cu excepția sîngelui, în țesuturile mamiferelor glutationul redus (G—SH) reprezintă peste 90% din totalul compușilor neproteici cu grupări tiol.

Glutationul îndeplinește diferite *roluri*, ca de exemplu:

— participă la procesele de oxidoreducere din celule, pe baza reacției reversibile: $2G-SH \underset{+2H}{\overset{-2H}{\rightleftharpoons}} G-S-S-G$;

—G—SH se comportă ca un activator al unor enzime SH — dependente;

— în unele procese biochimice, glutationul redus acționează ca o coenzimă, comportîndu-se frecvent ca un donator de hidrogen în reacțiile de oxidoreducere:

$$\underset{\substack{\text{Reactant}\\(\text{oxidat})}}{A} + \underset{\substack{\text{Produs}\\(\text{redus})}}{2G-SH} \xrightarrow{\text{Enzimă}} AH_2 + G-S-S-G;$$

glutationul redus poate fi ulterior regenerat din starea sa oxidată, în cadrul altor procese;

— G — SH acționează ca antioxidant, intervenind în protejarea anumitor substanțe contra oxidării (acidul ascorbic, adrenalina, hemoglobina);

— glutationului i se atribuie și un rol antitoxic.

Acidul oftalmic și acidul noroftalmic. Sînt *tripeptide* izolate din cristalinul ochiului de vițel; aceste tripeptide reprezintă derivați ai glutationului în care gruparea —SH este înlocuită cu radicalul $-C_2H_5$ și respectiv cu radicalul $-CH_3$.

Ocitocina și vasopresina. Sînt *octopeptide ciclice* cu structurile prezentate în figura 4.3.

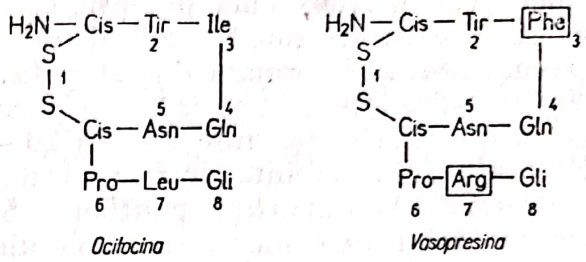


Fig. 4.3. Structura ocitocinei și vasopresinei

Structura ocitocinei și vasopresinei prezintă o mare asemănare, șase aminoacizi fiind comuni ambelor peptide; diferențele apar numai în pozițiile 3 și 7 în care izoleucina (3) și leucina (7) din ocitocină sînt înlocuite cu fenilalanină (3) și arginină (7) în vasopresină.

Ocitocina și vasopresina (obținute și prin sinteză chimică) sînt peptide cu *proprietăți hormonale* secretate de lobul posterior al hipofizei. Deși aceste peptide ciclice se caracterizează printr-o evidentă analogie structurală, totuși manifestă proprietăți hormonale diferite. Astfel, ocitocina stimulează contracția musculaturii netede (mușchiul uterin), precum și lactația, pe cînd vasopresina determină constricția vaselor sanguine — însoțită de creșterea presiunii sanguine — și manifestă proprietăți antidiuretice. Aminoacizii din pozițiile 3 și 7 au o valoare critică pentru manifestarea proprietăților biologice ale celor două peptide ciclice.

Tabelul 4—4

Activitateă biologlcă a ocitocinei și vasopresinei

Proprietăți	Peptide	
	Ocitocina	Vasopresina
Lactație	450	70
Contracția mușchiului uterin	450	20
Creșterea presiunii sanguine	5	400
Antidiureză	5	400

Proprietățile fiziologice și activitatea hormonală (exprimată ca număr de unități de activitate/mg de peptidă) sînt redate în tabelul 4—4.

Angiotensina I și Angiotensina II. Sînt oligopeptide constituite din zece aminoacizi *(decapeptidă)* și respectiv opt aminoacizi *(octopeptidă)*, cu următoarele secvențe:

Asp — Arg — Val — Tir — Val — His — Pro — Phe — His — Leu

Angiotensina I

Asp — Arg — Val — Tir — Val — His — Pro — Phe

Angiotensina II

Ambele peptide sînt prezente în sînge și au ca efect creșterea presiunii sanguine. Angiotensina I rezultă prin scindarea hidrolitică a α — globulinei din sînge sub acțiunea reninei — enzimă elaborată de rinichi; angiotensina II rezultă din angiotensina I.

Scanned with OKEN Scanner

Bradikinina. Este o *nonapeptidă* prezentă în sînge și acționează ca un antagonist potențial asupra contracției mușchiului neted:

Arg — Pro — Pro — Gli — Phe — Ser — Pro — Phe — Arg

Insulina. Este o *polipeptidă* cu rol hormonal secretată de către pancreas; acționează asupra nivelului glucozei sanguine (glicemie), exercitînd un efect hipoglicemiant. Molecula de insulină are o configurație spațială elicoidală și este constituită din 51 radicali de aminoacizi care se ordonează în două catene: *catena A* formată din 21 radicali de aminoacizi și *catena B* formată din 30 radicali de aminoacizi. Aceste catene sînt legate intercatenar prin două punți disulfurice (pozițiile 7—7 și 20—19); o a treia punte disulfurică este intracatenară, stabilită între radicalii de aminoacizi din pozițiile 6 și 11 ale catenei A. Existența punților —S—S—intercatenare este determinantă pentru stabilirea conformației moleculei de insulină, precum și pentru activitatea sa hormonală. Reprezentarea schematică a structurii insulinei este prezentată în figura 4.4.

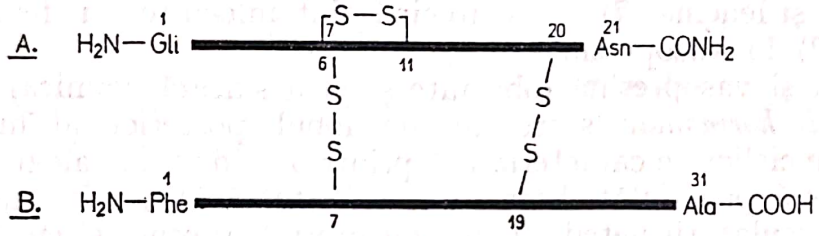


Fig. 4.4. Reprezentarea schematică a structurii insulinei.

Molecula de insulină prezintă unele variații structurale în funcție de specie; aceste diferențe se manifestă în secvența aminoacizilor din catena A, la nivelul pozițiilor 8, 9 și 10 (tabelul 4—5).

Glucagonul. Reprezintă *o polipeptidă* constituită din 29 aminoacizi; este secretat de pancreas și exercită o acțiune hormonală antagonistă insulinei (hiperglicemiantă). Spre deosebire de insulină, glucagonul are o structură monocatenară, conține metionină și triptofan — aminoacizi absenți din structura insulinei — și nu conține cisteină, izoleucină și prolină — aminoacizi prezenți în structura insulinei.

Corticotropina, hormonul melanocit, gastrinele etc. sînt *polipeptide* de origine animală care, în funcție de numărul și secvența aminoacizilor componenți, exercită funcții biologice specifice. Astfel: *corticotropina* (hormonul adrenocorticotrop — ACTH) conține 39 de aminoacizi, este secretată de lobul anterior al hipofizei și stimulează biosinteza și secreția hormonilor steroizi de către glanda corticosuprarenală; *hormonul melanocit* constituit din 18 aminoacizi este secretat de lobul intermediar al hipofizei și stimulează producerea de pigment în celulele melanocite ale pielii; *gastrinele* sînt poli-

Tabelul 4—5

Variații structurale ale insulinei la diferite specii

Proveniența insulinei	Secvența aminoacizilor din pozițiile: 8, 9, 10
Bovine	— Ala — Ser — Val —
Ovine	— Ala — Gli — Val —
Cabaline	— Tre — Gli — Ile —
Suine	— Tre — Ser — Ile —
Iepure	— Tre — Ser — Ile —
Om	— Tre — Ser — Ile —

Scanned with OKEN Scanner

peptide elaborate de mucoasa gastrică și au rol în stimularea secreției gastrice.

Scotofobina. Este o *polipeptidă* (tetradecapeptidă) recent descoperită; a fost izolată din creier și are următoarea secvență de aminoacizi:

$$H_2N - Ser - Asp - Asn - Asn - Glu - Gln - Gli - Lis -$$

$$Ser - Gln - Gli - Gli - Gln - Tir - COOH$$

Funcția biochimică a scotofobinei este legată de procesele de memorare („învățare") la animale, fiind implicată în codificarea în sistemul nervos central a informației primite; prin structura și funcția sa, scotofobina reprezintă deci baza moleculară a „învățării" animalului de a se adapta la un anumit stimul.

4.4. HOLOPROTEIDE

Holoproteidele sau *proteinele* reprezintă substanțe complexe cu caracter macromolecular și cu un înalt grad de organizare structurală; proteinele sînt constituite numai din aminoacizi și prezintă mase moleculare ce variază între aproximativ $1 \cdot 10^3$ și $1 \cdot 10^5$ (sau chiar mai mari).

Proteinele animale se caracterizează printr-o enormă diversitate structurală, reflectată și pe plan funcțional. Această diversitate este *specie — specifică* și *organo-specifică;* ea este determinată de numărul, tipurile și secvența aminoacizilor componenți ai macromoleculelor proteice, precum și de organizarea spațială, configurațională a macromoleculei respective. Marea variabilitate structurală a proteinelor este rezultanta posibilităților multiple de secvențializare a aminoacizilor constituenți, ceea ce are ca efect existența unui număr enorm de forme izomere, fiecare izomer putînd reprezenta o proteină individuală.

4.4.1. STRUCTURA PROTEINELOR

4.4.1.1. FACTORI IMPLICAȚI ÎN ORGANIZAREA STRUCTURII PROTEINELOR

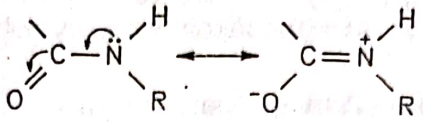
Proteinele se caracterizează printr-o structură complexă. Această complexitate rezultă atît din faptul că proteinele sînt macromolecule cît și din aranjamentul spațial, configurațional. Noțiunea de *configurație* reprezintă orientarea în spațiu, respectiv dispunerea tridimensională a atomilor sau grupărilor de atomi ai moleculei în raport cu un anumit centru de referință (de exemplu, un atom de carbon asimetric) sau cu o anumită componentă a structurii considerată ca rigidă (de exemplu, un ciclu de atomi, o dublă legătură C = C).

La edificarea și organizarea spațială a structurii de ansamblu a proteinelor sînt implicați direct o serie de factori, ca de exemplu:

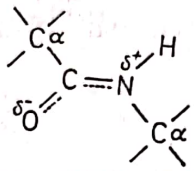
a) *Caracterul legăturii peptidice.* Legătura peptidică prin care aminoacizii sînt uniți în molecula proteică manifestă un caracter apreciabil de dublă legătură și nu de simplă legătură covalentă de tip C — N. Acest carac-

Scanned with OKEN Scanner

er se explică prin următoarele *structuri limită de rezonanță* ale legăturii peptidice:



Din aceste structuri limită rezultă că prin delocalizarea electronilor, legătura covalentă C—N dobîndește un caracter de dublă legătură. Astfel, legătura peptidică devine coplanară și poate fi reprezentată prin următoarea structură globală, ca exprimare a celor două structuri limită de rezonanță:



b) *Geometria legăturii peptidice.* Datorită caracterului parțial de dublă legătură existentă între atomii C—N, acești atomi devin coplanari; în consecință, planul relativ rigid în care se află legătura C—N nu permite o rotație liberă, ci numai o rotație restrînsă a atomilor de C și N în jurul axei legăturii coplanare C—N. Deoarece legătura peptidică este coplanară, sînt permise rotații libere numai în jurul axei $C_\alpha - N$ și a axei $C_\alpha - C$, fapt ce se repercutează asupra organizării spațiale a proteinelor; se creează astfel posibilitatea apariției unor *conformații diferite* pe care le poate lua o moleculă proteică în structura sa de ansamblu. În figura 4.5 sînt reprezentate, spre exemplificare, planurile a două legături peptidice unite prin atomul C_α, cu indicarea rotațiilor în jurul axelor $C_\alpha - N$ și $C_\alpha - C$.

Orientarea geometrică a celor doi atomi C_α adiacenți legăturii peptidice, ca și a atomilor O și H atașați de legătura peptidică este în poziția *trans*, poziție care este mai stabilă din punct de vedere energetic (fig. 4.6). Ca o

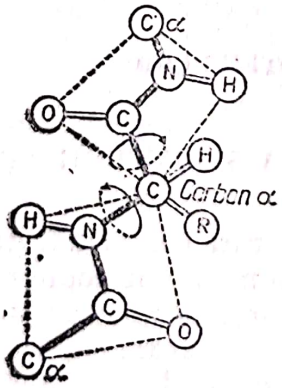
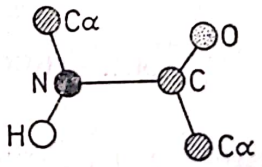


Fig. 4.5. Planurile a două legături peptidice cu indicarea rotațiilor ← în jurul axelor $C_\alpha - N$ și $C_\alpha - C$.



4.6. Geometria legăturii peptidice (orientare trans).

consecință a acestei orientări spațiale, precum și datorită configurației L a aminoacizilor constituenți, catenele laterale (R) ale acestor aminoacizi grefate la fiecare atom C_α sînt dispuse într-un aranjament *trans-repetabil*.

c) *Natura catenelor laterale* (R) ale aminoacizilor joacă un rol determinant în stabilirea configurației structurale a fiecărei proteine. O moleculă de proteină tinde să-și expună un număr maxim din grupările sale polare către partea externă, spre mediul apos în care subzistă (hidrofilie), pe cînd

un număr maxim din grupările sale nepolare se dispun către partea internă (hidrofobie). Asemenea orientări determină o stabilizare a conformației moleculei de proteină. Acest efect de stabilizare este corelat cu o descreștere a entropiei *.

Radicalii aminoacizilor cu grupări polare neîncărcate participă la stabilizarea legăturilor de hidrogen care intervin în organizarea spațială a proteinelor. Aminoacizii cu grupări polare încărcate electric sînt sub dependența pH-ului mediului în care există și pot afecta astfel activitatea proteinelor cu rol funcțional. Alți aminoacizi îndeplinesc diferite roluri specifice în organizarea spațială a moleculei proteice. Astfel: cisteina se poate lega cu o altă moleculă de cisteină formînd legături — S — S — intracatenare sau intercatenare; histidina, prin perechea de electroni disponibilă de la atomul de azot din ciclul imidazol, poate lega ioni metalici ca în metalproteide (hemoglobină, citocromi); lizina, serina și histidina intră în constituția situsurilor catalitice ale multor enzime; aminoacizii cu caracter polar ca: acidul glutamic, acidul aspartic, arginina, lizina și histidina se ionizează în domenii mari de pH și pot astfel forma legături electrovalente (ionice) care participă la stabilizarea structurii spațiale a proteinelor.

d) *Conformația.* Ca macromolecule, proteinele se caracterizează printr-o *arhitectură spațială bine definită* care reflectă organizarea lor conformațională, stereospecifică. Conceptul de *conformație* reprezintă modalitatea în care atomii sau grupările de atomi sînt repartizate în spațiu, în cadrul unei aceleiași configurații a moleculei; această repartizare spațială apare ca o consecință a rotirii atomilor sau grupelor de atomi în jurul axei unor legături simple existente în molecula respectivă. Noțiunea de conformație implică participarea structurilor secundară și terțiară ale catenelor polipeptidice la orientarea tridimensională specifică a moleculelor de proteine. În cadrul aceleași configurații structurale, o moleculă de proteină poate adopta conformații diferite (conformeri).

4.4.1.2. NIVELURI DE ORGANIZARE A STRUCTURII PROTEINELOR

Structura globală, de ansamblu a macromoleculelor proteice se manifestă ca rezultanta coexistenței și interacțiunii mai multor tipuri de structuri sau *niveluri de organizare*, și anume: *primar*, *secundar*, *terțiar* și *cuaternar*.

Aceste niveluri reflectă, de fapt, existența unei structuri de bază și a unei structuri spațiale tridimensionale, încorporate în structura de ansamblu a proteinelor. Structura de bază reprezintă organizarea intracatenară determinată de orînduirea aminoacizilor în catenele polipeptidice ce compun macromolecula proteică; structura tridimensională este determinată de orientarea spațială, de conformația acestor catene, de interacțiunile intra- și intercatenare. Structura primară reflectă structura de bază a proteinelor, pe cînd structurile secundară, terțiară și cuaternară reflectă organizarea spațială, tridimensională a proteinelor. Între aceste niveluri de organizare structurală nu există delimitări precise, ele interacționînd în cadrul unei structuri generale unice; interdependența între aceste structuri definește arhitectura de ansamblu a macromoleculelor proteice, care se manifestă prin existența unor particularități structurale și proprietăți funcționale specifice fiecărei proteine.

* *Entropia* este un concept termodinamic care, în sensul menționat, indică gradul de organizare al unui sistem; o entropie scăzută corespunde la un înalt grad de organizare și invers.

Scanned with OKEN Scanner

Structura primară. Acest nivel de organizare constituie structura de bază a oricărei proteine și reprezintă *organizarea intracatenară* care este determinată de *numărul, tipurile, proporția* și *modul de orînduire* (secvența) a aminoacizilor ce intră în constituția unei anumite proteine. Caracteristicile esențiale ale structurii primare sînt următoarele: existența *legăturilor peptidice* (—CO—NH—) care se stabilesc între diferiți α-aminoacizi constituenți; existența unei *secvențe* (succesiuni) bine definite a aminoacizilor în catenele polipeptidice, secvență care este sub control genetic; constituie *„coloana vertebrală"* a oricărei molecule proteice; determină *configurația* specifică fiecărei proteine, structura tridimensională și activitatea biologică a proteinei fiind dependente și controlate de secvența de aminoacizi caracteristică structurii primare

Proteinele sînt alcătuite din catene (lanțuri) polipeptidice a căror specificitate structurală este determinată de secvența de aminoacizi. În figura 4.7 este prezentat un fragment dintr-o catenă polipeptidică. În structura primară,

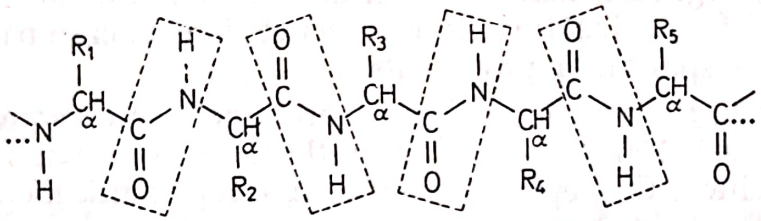


Fig. 4.7. Structura primară a unui fragment dintr-o catenă polipeptidică.

atomii de C și N implicați în stabilirea legăturilor peptidice sînt coplanari și nu se pot roti liber, iar radicalii aminoacizilor constituenți (R_1, R_2, R_3 etc.) aferenți atomilor C_α sînt dispuși alternativ deasupra și sub planurile legăturilor peptidice într-un aranjament trans-repetabil. Natura chimică a acestor radicali are o importanță decisivă pentru organizarea globală a structurii proteinelor; într-adevăr, acești radicali constituie un element de variabilitate în structura primară și pot interacționa în cadrul catenelor polipeptidice ale moleculelor proteice datorită caracterului lor diferit: radicali polari și ionizabili (acid aspartic, acid glutamic, lizină, arginină), radicali polari și neionizabili (serină, cisteină, fenilalanină, tirozină), radicali nepolari (alanină, valină, leucină). Individualitatea structurală și funcțională a fiecărei proteine este determinată — ca factori primari — atît de *secvența* aminoacizilor care constituie structura primară cît și de *lungimea* catenelor polipeptidice care diferă de la un tip de proteină la altul.

Operațiile analitice necesare elucidării structurii primare a proteinelor sînt extrem de complexe, laborioase și de mare finețe. Acesta este și unul din motivele pentru care, pînă în prezent, nu s-a putut stabili structura decît la un număr foarte restrîns de polipeptide și proteine, și anume: insulina (51)*, mioglobina (153), hemoglobina [catenele α (141) și β (146)], ribonucleaza (124), citocromul c (104), lizozimul (129), chimotripsinogenul (245), tripsinogenul (229), papaina (203), subtilizina (245), carboxipeptidaza (307), γ-globulina (1320), unele proteine de origine virală.

În figura 4.8, se prezintă — ca exemplu — structura ribonucleazei (proteină cu rol enzimatic care scindează hidrolitic acizii ribonucleici — ARN) izolată din pancreasul de bovine, structură din care rezultă secvența aminoacizilor constituenți.

* În paranteze, numărul de aminoacizi constituenți.

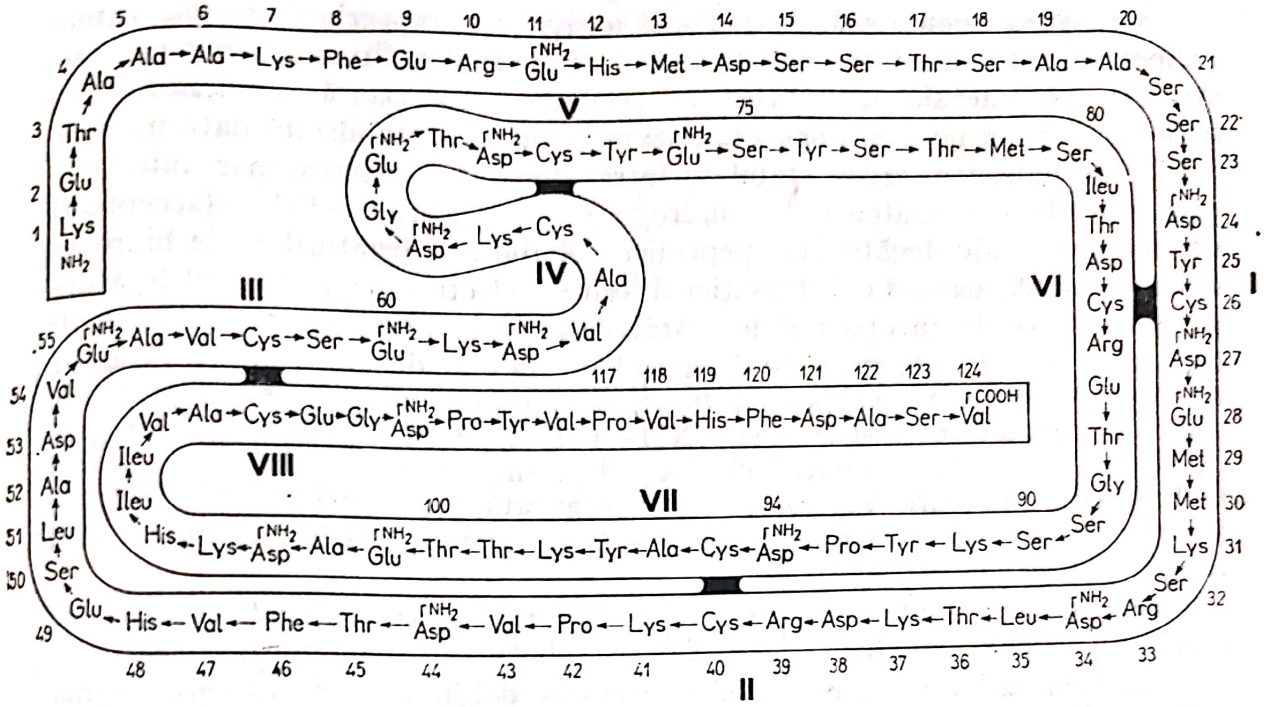


Fig. 4.8. Structura ribonucleazei bovine (porțiunile îngroșate indică poziția legăturilor —S—S— intercatenare).

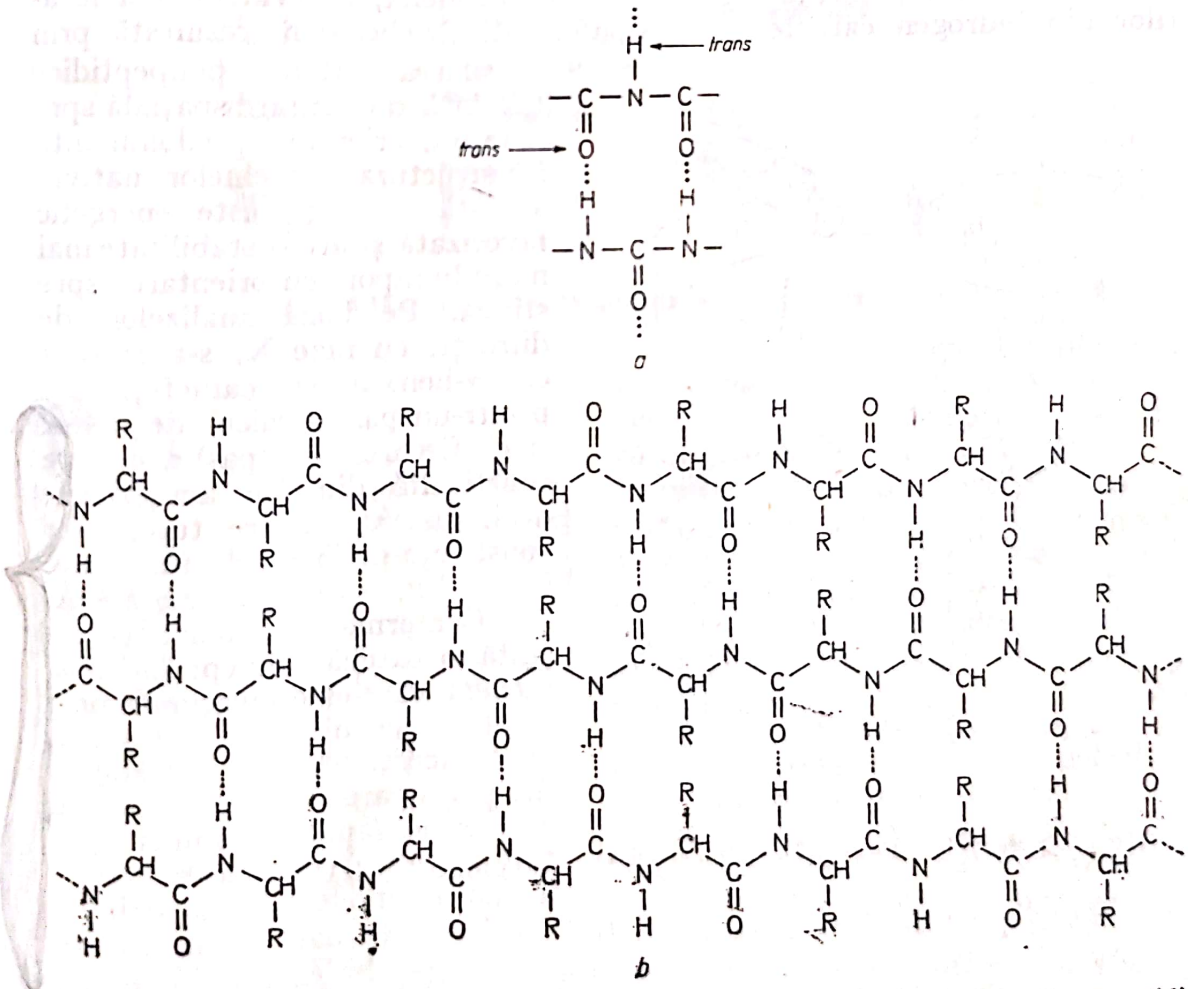


Fig. 4.9. Legături de hidrogen stabilite între două (*a*) și respectiv trei (*b*) catene polipeptidice.

Scanned with OKEN Scanner

Structura secundară. Proteinele native nu reprezintă simple catene polipeptidice extinse într-un singur plan, ci ele se constituie într-o organizare spațială, tridimensională. Structura secundară reprezintă *organizarea spațială* a catenelor polipeptidice, organizare generată și stabilizată datorită legăturilor de hidrogen care se stabilesc intracatenar sau intercatenar între grupările — NH — (donatoare de hidrogen) și grupările — CO — (acceptoari de hidrogen) ale legăturilor peptidice. Stabilirea legăturilor de hidrogen devine posibilă datorită distribuției diferite a electronilor la nivelul legăturii peptidice care devine parțial ionizată. Atomul de O posedînd un exces de electroni (δ^-), iar atomul de N avînd un deficit de electroni (δ^+), ambi atomi fiind orientați în poziția *trans*, se creează posibilitatea ca grupările atomice respective (—CO — și —NH—) să formeze legături de hidrogen, după cum se indică în figura 4.9. Deși legăturile sînt relativ slabe, totuși stabilitatea structurii secundare este asigurată prin posibilitatea formării acestor legături într-un număr mare și prin repartizarea lor uniformă de-a lungul catenelor polipeptidice.

Structura secundară se prezintă în trei *modele* sau *variante structurale*: modelul α-helix, modelul în „planuri pliate" și modelul tip colagen.

Modelul α-helix. Acest model prevede dobîndirea de către o catenă polipeptidică a unei conformații elicoidale numită „*α-helix*", conformație rezultată și stabilizată prin legături de hidrogen intracatenare. În figura 4.10 sînt redate reprezentări ale conformației α-helix, cu evidențierea legăturilor din hidrogen caracteristice. Conformația α-elicoidală rezultată prin spiralarea catenei polipeptidice prezintă o orientare spațială spre dreapta, orientare predominantă în structura proteinelor native; această orientare este energetic favorizată și are o stabilitate mai mare în raport cu orientarea spre stînga. Pe baza analizelor de difracție cu raze X, s-a stabilit că α-helixul se caracterizează printr-un pas al elicei de 5,4 Å și că fiecare tură (pas) a sa este constituită din 3,6 aminoacizi; deci, distanța dintre ture, care constituie perioada de identitate în α-helix, este egală cu 5,4 Å.

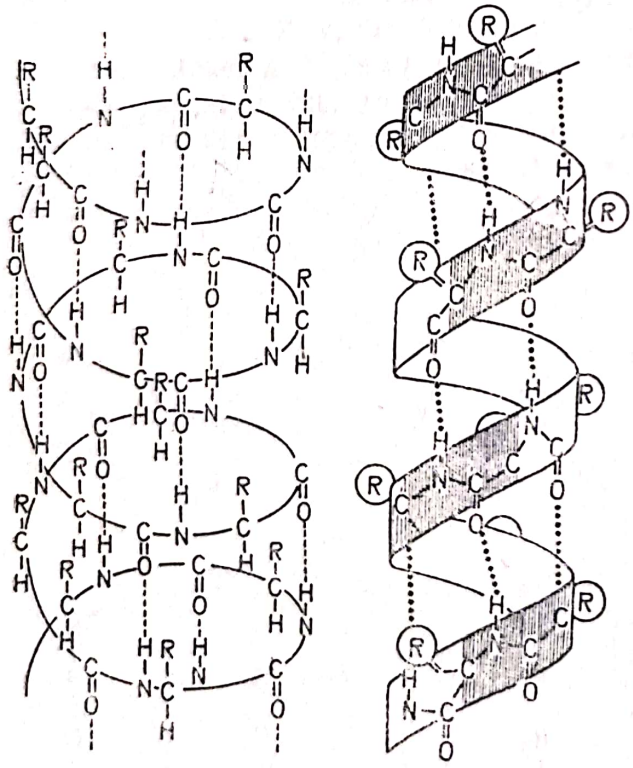


Fig. 4.10. Reprezentări ale conformației α-helix.

Conformația α-helix reprezintă o catenă polipeptidică *contractată* care este menținută prin legături de hidrogen intracatenare; aceste legături se stabilesc între gruparea — CO — a unui aminoacid (aparținînd unei legături peptidice) și gruparea —NH— a altui aminoacid (aparținînd altei legături peptidice) situată peste trei aminoacizi mai jos în catena polipeptidică, adică la o distanță de trei secvențe, în raport cu prima legătură peptidică. Deci, grupările participante la stabilirea legăturilor de

Scanned with OKEN Scanner

Structura secundară. Proteinele native nu reprezintă simple catene polipeptidice extinse într-un singur plan, ci ele se constituie într-o organizare spațială, tridimensională. Structura secundară reprezintă *organizarea spațială* a catenelor polipeptidice, organizare generată și stabilizată datorită legăturilor de hidrogen care se stabilesc intracatenar sau intercatenar între grupările — NH — (donatoare de hidrogen) și grupările — CO — (acceptoari de hidrogen) ale legăturilor peptidice. Stabilirea legăturilor de hidrogen devine posibilă datorită distribuției diferite a electronilor la nivelul legăturii peptidice care devine parțial ionizată. Atomul de O posedînd un exces de electroni (δ^-), iar atomul de N avînd un deficit de electroni (δ^+), ambi atomi fiind orientați în poziția *trans*, se creează posibilitatea ca grupările atomice respective (—CO — și —NH—) să formeze legături de hidrogen, după cum se indică în figura 4.9. Deși legăturile sînt relativ slabe, totuși stabilitatea structurii secundare este asigurată prin posibilitatea formării acestor legături într-un număr mare și prin repartizarea lor uniformă de-a lungul catenelor polipeptidice.

Structura secundară se prezintă în trei *modele* sau *variante structurale:* modelul α-helix, modelul în „planuri pliate" și modelul tip colagen.

Modelul α-helix. Acest model prevede dobîndirea de către o catenă polipeptidică a unei conformații elicoidale numită *„α-helix"*, conformație rezultată și stabilizată prin legături de hidrogen intracatenare. În figura 4.10 sînt redate reprezentări ale conformației α-helix, cu evidențierea legăturilor din hidrogen caracteristice. Conformația α-elicoidală rezultată prin spiralarea catenei polipeptidice prezintă o orientare spațială spre dreapta, orientare predominantă în structura proteinelor native; această orientare este energetic favorizată și are o stabilitate mai mare în raport cu orientarea spre stînga. Pe baza analizelor de difracție cu raze X, s-a stabilit că α-helixul se caracterizează printr-un pas al elicei de 5,4 Å și că fiecare tură (pas) a sa este constituită din 3,6 aminoacizi; deci, distanța dintre ture, care constituie perioada de identitate în α-helix, este egală cu 5,4 Å.

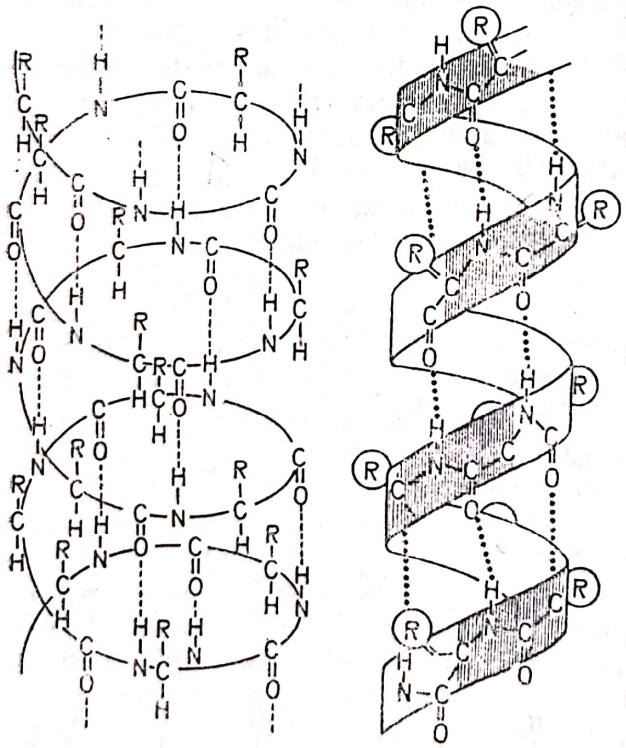
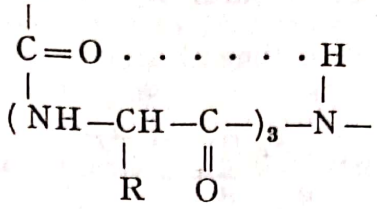


Fig. 4.10. Reprezentări ale conformației α-helix.

Conformația α-helix reprezintă o catenă polipeptidică *contractată* care este menținută prin legături de hidrogen intracatenare; aceste legături se stabilesc între gruparea — CO — a unui aminoacid (aparținînd unei legături peptidice) și gruparea —NH— a altui aminoacid (aparținînd altei legături peptidice) situată peste trei aminoacizi mai jos în catena polipeptidică, adică la o distanță de trei secvențe, în raport cu prima legătură peptidică. Deci, grupările participante la stabilirea legăturilor de

Scanned with OKEN Scanner

hidrogen se află amplasate la o distanță de o tură din α-helix, tură care se poate reprezenta astfel:



Alinierea remarcabilă a celor patru atomi din cei doi dipoli ($\overset{|}{C}=O$ și $H-N-$) este o consecință a geometriei legăturii peptidice; totodată, legăturile de hidrogen sînt dispuse aproape perfect paralel cu axa α-helixului. Radicalii (R) aminoacizilor componenți ai α-helixului sînt așezați alternativ — întocmai ca în structura primară — deasupra și sub planurile legăturilor peptidice și proiectate radial în jurul elicei.

Proteinele native nu sînt alcătuite din conformații α-helix regulate decît în anumite proporții, structura lor conținînd și regiuni neelicoidale, intercalate în regiuni elicoidale. Conținutul elical (α-helix) sau gradul de spiralare al proteinelor globulare variază de la o proteină la alta, majoritatea reprezentînd atît porțiuni α-helix, cît și porțiuni răsucite, neelicoidale (fig. 4.11).

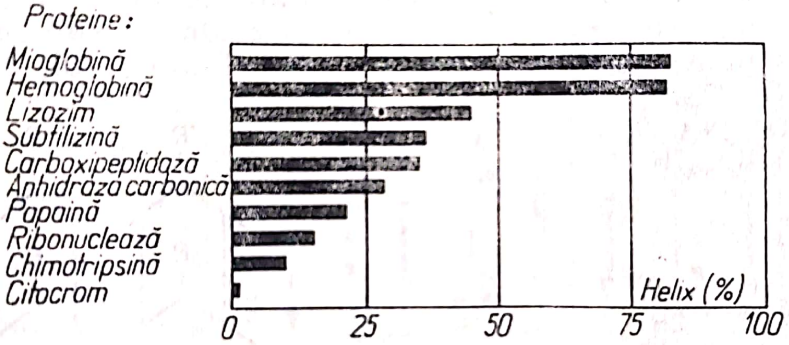


Fig. 4.11. Conținutul în α-helix al unor proteine.

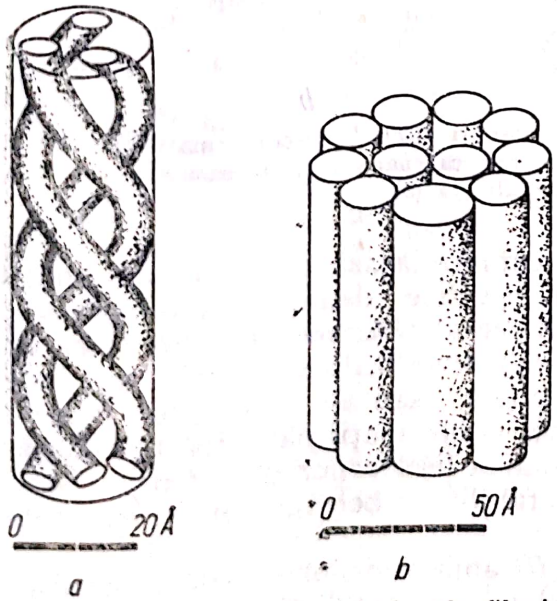


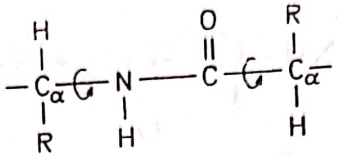
Fig. 4.12. Elemente structurale ale fibrei de lînă :
a — protofibrilă; b — microfibrilă.

Totuși, unele proteine fibrilare ca *α-keratina* din lînă sînt constituite numai din α-helixuri regulate. α-Keratina din lînă este formată din trei catene elicoidale (α-helix) întrepătrunse și stabilizate prin punți disulfurice, care alcătuiesc o *protofibrilă;* ansamblul a 11 protofibrile formează *microfibrila* de lînă. În figura 4.12 este redată reprezentarea elementelor structurale ale fibrei de lînă.

Discontinuitatea produsă în conformația α-helix a catenelor polipeptidice datorită existenței unor regiuni cu conformații aleatoare, neregulate este determinată de natura chimică a radicalilor (R) a unor aminoacizi care pot exercita atracții sau repulsii incompatibile cu formarea unei conformații α-helix; regiunile cu asemenea

Scanned with OKEN Scanner

conformații neelicoidale, randomizate apar datorită posibilităților de rotație liberă (↻) care se manifestă în jurul legăturilor interatomice în care sînt implicați atomii de carbon α:



Modelul în „planuri pliate" (sau „foaie pliată"). Acest model reprezintă, de asemenea, o conformație ordonată și stabilizată prin *legături de hidrogen* însă aceste legături — în care sînt antrenate grupările $\rangle C{=}O$ și $H{-}N\langle$ din legăturile peptidice — se stabilesc *intercatenar*. Spre deosebire de modelul α-helix, în cel al „planurilor pliate" legăturile de hidrogen intercatenare sînt dispuse aproape perpendicular pe axa catenei polipeptidice. Modelul în planuri pliate este caracteristic multor *proteine fibrilare.*

Prototipul modelului în „planuri pliate" îl reprezintă β-*keratina*, proteină fibrilară din lînă, păr, unghii, pene. Reprezentarea spațială a acestui model este redată în figura 4.13. Din analiza acestei reprezentări, rezultă că

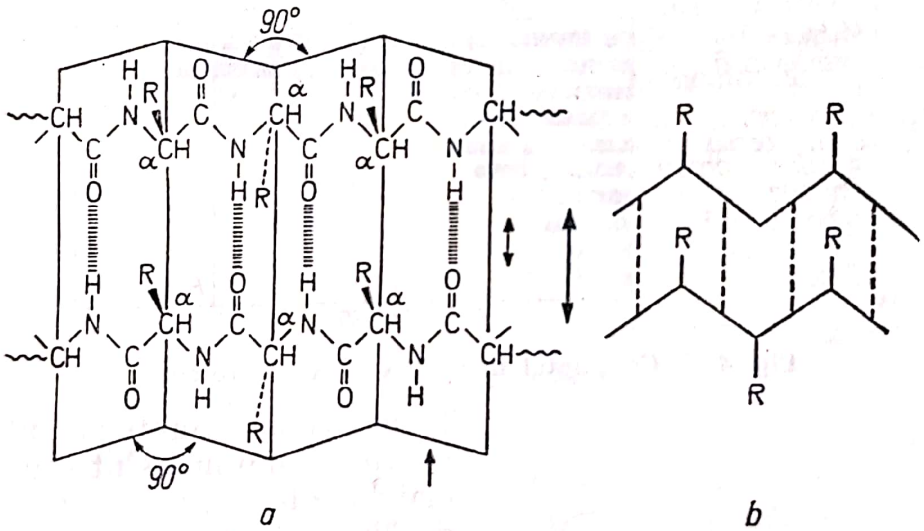


Fig. 4.13. Reprezentarea modelului în „planuri pliate" (β-conformație) cu evidențierea legăturilor de hidrogen intercatenare (*a*); aceeași reprezentare însă simplificată (*b*).

modelul structural în „planuri pliate" se caracterizează printr-o conformație *„destinsă"*, în „zigzag", a catenelor polipeptidice denumită β-*conformație*. În această conformație, catenele polipeptidice sînt dispuse *paralel*, între ele stabilindu-se legături de hidrogen intercatenare; se realizează astfel un aranjament spațial de forma unor „planuri pliate" sau ale unei „foi pliate". La constituirea și menținerea unei asemenea conformații participă toate legăturile peptidice care sînt implicate în formarea legăturilor de hidrogen intercatenare, condiție care conferă o mare stabilitate acestui tip de structură secundară.

Din figura 4.13 reiese că radicalii (*R*) aminoacizilor se află repartizați alternativ, deasupra și dedesubtul planurilor în „zigzag" ale catenelor polipeptidice. Atomii de carbon α, purtători ai acestor radicali (*R*), sînt amplasați pe muchia care delimitează două planuri, iar grupările —CO— și —NH—

Scanned with OKEN Scanner

grefate la atomii de carbon α se află dispuse în planuri separate, de o parte și de alta a atomilor Cα.

Între α-keratină, proteină nativă cu structură secundară de tip α-helix, și β-keratină, proteină cu structură secundară de tip „planuri pliate" există o transformare reversibilă de tipul:

$$\underset{(\alpha\text{-helix})}{\alpha\text{-keratină}} \rightleftharpoons \underset{(\beta\text{-pliere})}{\beta\text{-keratină}}$$

În anumite condiții experimentale, α-keratina supusă acțiunii căldurii, umezelii și a unei tracțiuni se transformă în β-keratină. Această conversie este însoțită de o desfacere a legăturilor de hidrogen intracatenare ale α-keratinei și de stabilirea concomitentă a unor legături de hidrogen intercatenare; catenele polipeptidice sufăr o β-pliere și se organizează astfel într-un model structural de tip „planuri pliate" caracteristic β-keratinei. În acest proces, α-keratina se transformă reversibil dintr-o structură secundară *constrînsă* (α-helix) într-o structură secundară *relaxată* („planuri pliate").

O structură secundară oarecum similară β-keratinei o reprezintă *fibroina* din mătase. În β-keratină, catenele polipeptidice sînt așezate paralel cu radicalii (R) aminoacizilor orientați în același sens; în fibroină, catenele polipeptidice sînt însă orientate *antiparalel*, cele învecinate fiind dispuse în direcția opusă (fig. 4.14). Totodată, modelul structural al fibroinei este mai

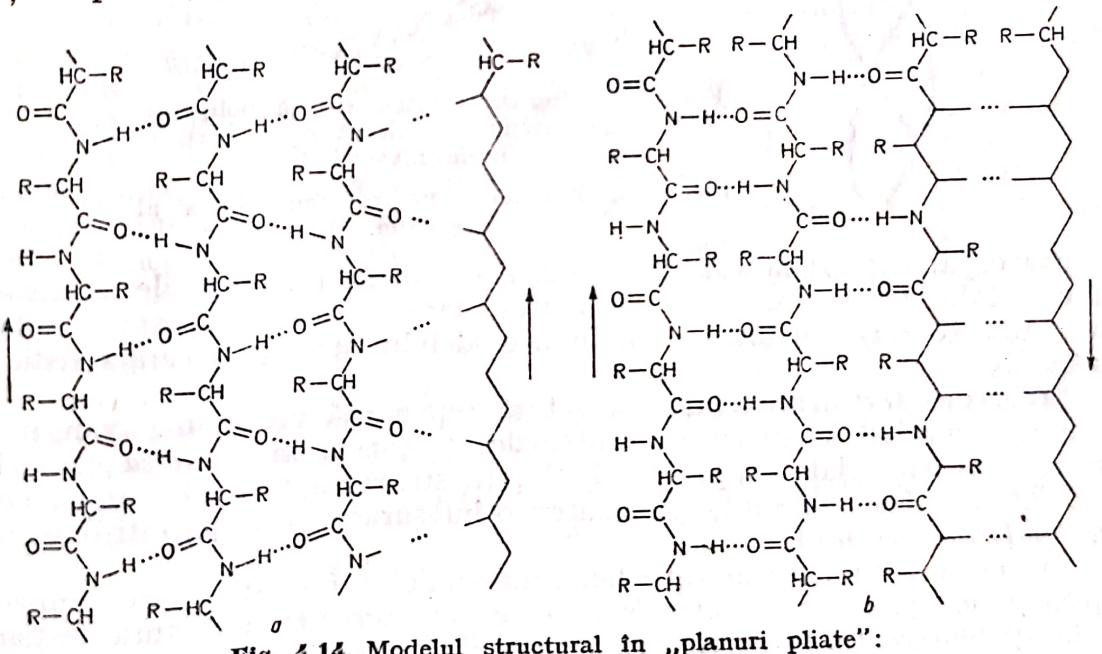


Fig. 4.14. Modelul structural în „planuri pliate":
a — tip β-keratină(paralel); *b* — tip fibroină (antiparalel).

extins în comparație cu cel al β-keratinei. Structura primară a fibroinei conține ca unitate repetitivă următoarea secvență de șase aminoacizi: (Gli — Ser — Gli — Ala — Gli — Ala)$_n$.

Modelul tip colagen. Colagenul este o proteină fibrilară cu răspîndire largă în țesuturile animale, fiind prezent în oase, cartilagii, tendoane, piele etc.; constituie aproximativ 30% din totalul proteinelor organismului animal. Dotat cu o mare extensibilitate, colagenul constă din fibre liniare individuale insolubile în apă (solubile numai la fierbere).

Scanned with OKEN Scanner

Structura moleculei de colagen se prezintă ca un superhelix (superelice) format din trei catene polipeptidice spiralate care constituie un *triplu-helix*; fiecare catenă spiralată este răsucită spre stînga și înfășurată în jurul axei proprii, precum și în jurul unei axe comună celor trei catene (fig. 4.15). Fibra de colagen se prezintă astfel ca un cablu împletit în care superhelixul format din ansamblul celor trei catene polipeptidice este menținut prin legături de hidrogen intercatenare. Un asemenea model molecular se caracterizează printr-o rigiditate extremă. Structura colagenului este determinată de proporția foarte mare (25%) în care se află *prolina*, *hidroxiprolina* și *glicocolul*. Conținutul ridicat în acești aminoacizi nu permite organizarea catenelor polipeptidice într-o conformație de tip α-helix sau de tip planuri pliate. Atomul de hidrogen iminic din ciclul pirolidinic al prolinei și hidroxiprolinei fiind angajat în formarea legăturilor peptidice ale infrastructurii primare nu

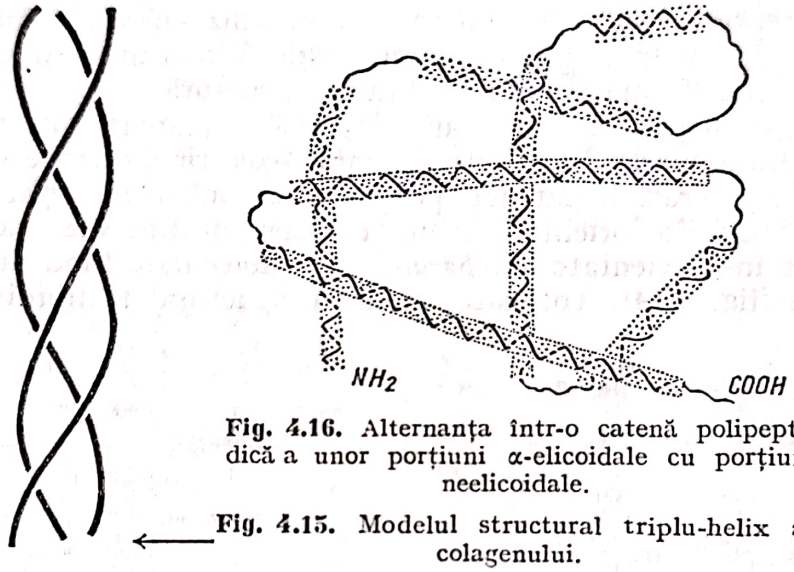


Fig. 4.16. Alternanța într-o catenă polipeptidică a unor porțiuni α-elicoidale cu porțiuni neelicoidale.

Fig. 4.15. Modelul structural triplu-helix al colagenului.

mai poate participa și la stabilirea unor legături de hidrogen; de asemenea, forma ciclului pirolidinic ca și conținutul mare de glicocol (cu un radical foarte mic, R=H) concură la stabilirea modelului structural caracteristic al colagenului.

Structura terțiară. Această structură reprezintă un stadiu avansat de organizare spațială a structurii proteinelor și constă în *replierea* catenelor polipeptidice elicoidale asupra lor înșile. În structura terțiară, catena polipeptidică manifestă tendința de a suferi o înfășurare spontană într-o *organizare spațială complexă*.

Structura secundară de tip α-helix nu explică *per se* structura compactă a proteinelor globulare pentru care este caracteristică structura terțiară. De fapt, demarcația între structura secundară și cea terțiară este oarecum arbitrară. Într-adevăr, cele două forme de organizare spațială rezultă din replierea catenelor polipeptidice, însă structura secundară reflectă un mod de repliere regulat, pe cînd cea terțiară îmbină replierea ordonată cu plieri ce nu sînt regulat ordonate în spațiu. În orice caz, atît structura secundară cît și cea terțiară induc moleculelor proteice o *stereospecificitate* care este responsabilă de reactivitatea chimică și biologică a proteinelor.

Structura terțiară se caracterizează, de asemenea, prin alternanța de-a lungul catenei polipeptidice respective a unor porțiuni elicoidale regulate și rigide cu porțiuni neelicoidale și flexibile aleator înfășurate. O asemenea conformație este sugerată prin reprezentare stilizată din figura 4.16. Prin

Scanned with OKEN Scanner

structura terțiară se asigură orientarea tridimensională completă și specifică a proteinelor de tip globular. Orice proteină posedă o conformație spațială unică, *sui generis*, conferită — în ultimă analiză — de secvența sa de aminoacizi caracteristică; specificitatea funcțională a fiecărei proteine este consecința directă a conformației sale.

Structura terțiară a proteinelor se constituie pe baza anumitor legități și reflectă existența unei conformații specifice a catenelor polipeptidice, conformație organizată și menținută prin stabilirea unor legături și interacțiuni diferite. Aceste legături intercatenare se manifestă ca veritabile *forțe de stabilizare* a structurii spațiale a proteinelor și sînt de următoarele tipuri:

— *legături covalente*, formate prin punți disulfurice (—S—S—), stabilite între radicalii de cisteină;

— *legături ionice*, stabilite prin atracție electrostatică între grupări polare ($-NH_3^+$ din aminoacizii diaminomonocarboxilici și $-COO^-$ din aminoacizii monoaminodicarboxilici), de exemplu ale lizinei și acidului glutamic;

— *legături de hidrogen* nepeptidice care sînt, evident, diferite de cele existente la nivelul legăturilor peptidice; aceste legături de hidrogen se stabilesc, de exemplu, între gruparea —OH a tirozinei și atomul de O din gruparea $-COO^-$ a acidului glutamic;

— *legături de hidrogen peptidice*, stabilite între diferite segmente pliate ale catenei polipeptidice;

— *interacțiuni dipol-dipol*, stabilite între grupările alcool $-CH_2OH$ din serină;

— *forțe Van der Waals și interacțiuni hidrofobe*, stabilite între radicali de aminoacizi nepolari (hidrofobi) ca: leucina, izoleucina, valina, alanina, fenilalanina; interacțiunile hidrofobe se bazează pe atracția mutuală a grupărilor nepolare și au ca efect excluderea moleculelor de solvent polar din regiunea pe care o formează în moleculă; regiunile hidrofobe constituite aproape numai din aminoacizi cu catene nepolare (hidrofobe) se găsesc localizate spre interiorul moleculei proteice globulare („miezul moleculei"), exercitînd o funcție esențială de stabilizare a componentei structurale interne; în contrast cu regiunile hidrofobe, cele hidrofile se găsesc dispuse spre exteriorul moleculei.

Structura terțiară prezintă un grad mare de *labilitate* în raport cu diferiți factori fizici și chimici; desfacerea legăturilor implicate în organizarea structurii terțiare determină *denaturarea* proteinelor, proces însoțit, de regulă, de pierderea proprietăților biologice.

În figura 4.17 este redată reprezentarea diferitelor forțe de stabilizare a structurii terțiare, cu mențiunea că frecvența fiecărui tip de legătură variază de la proteină la proteină.

Una din puținele proteine a căror structură a fost determinată este *mioglobina* cu rol în transportul și depozitarea oxigenului în țesutul muscular. Mioglobina este constituită dintr-o singură catenă polipeptidică conținînd 153 aminoacizi și o grupare prostetică denumită hem care conține Fe. În figura 4.18 se redă structura de ansamblu a mioglobinei, structură care include cele trei niveluri de organizare: primar, secundar și terțiar. În această organizare spațială a moleculei se disting diferite regiuni ale unicului lanț polipeptidic indicate prin literele cuprinse între A și H; cifrele asociate literelor precizează poziția aminoacizilor din fiecare regiune. După cum se constată, în catena polipeptidică a mioglobinei configurația α-helix este predominantă (80%) și alternează cu porțiuni neelicoidale care conferă flexibilitate moleculei. Gruparea *hem* este reprezentată prin chenarul punctat

Scanned with OKEN Scanner

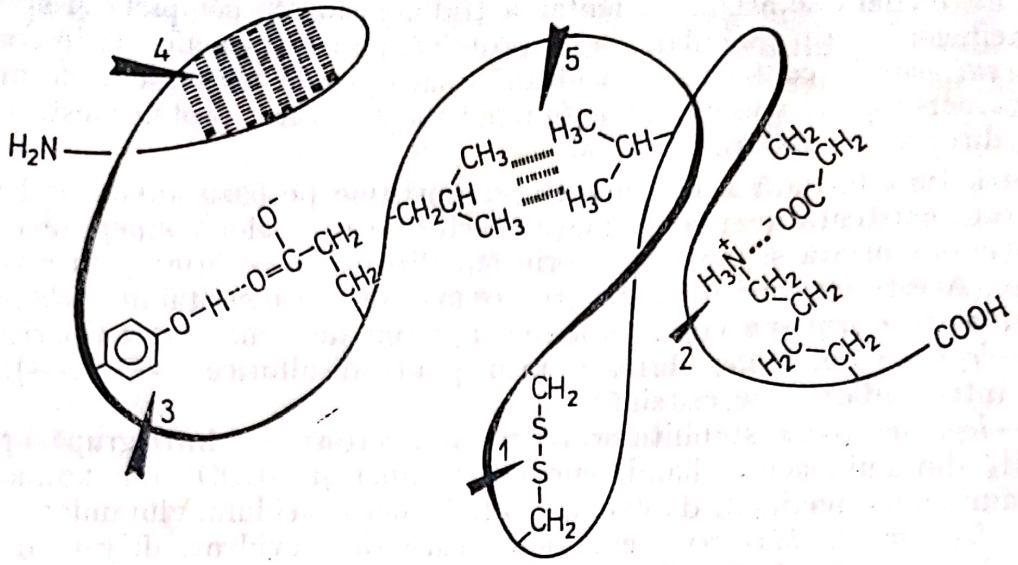


Fig. 4.17. Reprezentarea diferitelor forțe de stabilizare a structurii terțiare:
1 — legături covalente disulfurice; *2* — legături ionice; *3* — legături de hidrogen; *4* — legături de hidrogen între grupări peptidice aparținînd unor segmente ale catenei polipeptidice; *5* — interacțiuni hidrofobe între radicali nepolari de aminoacizi: (Leu-Val).

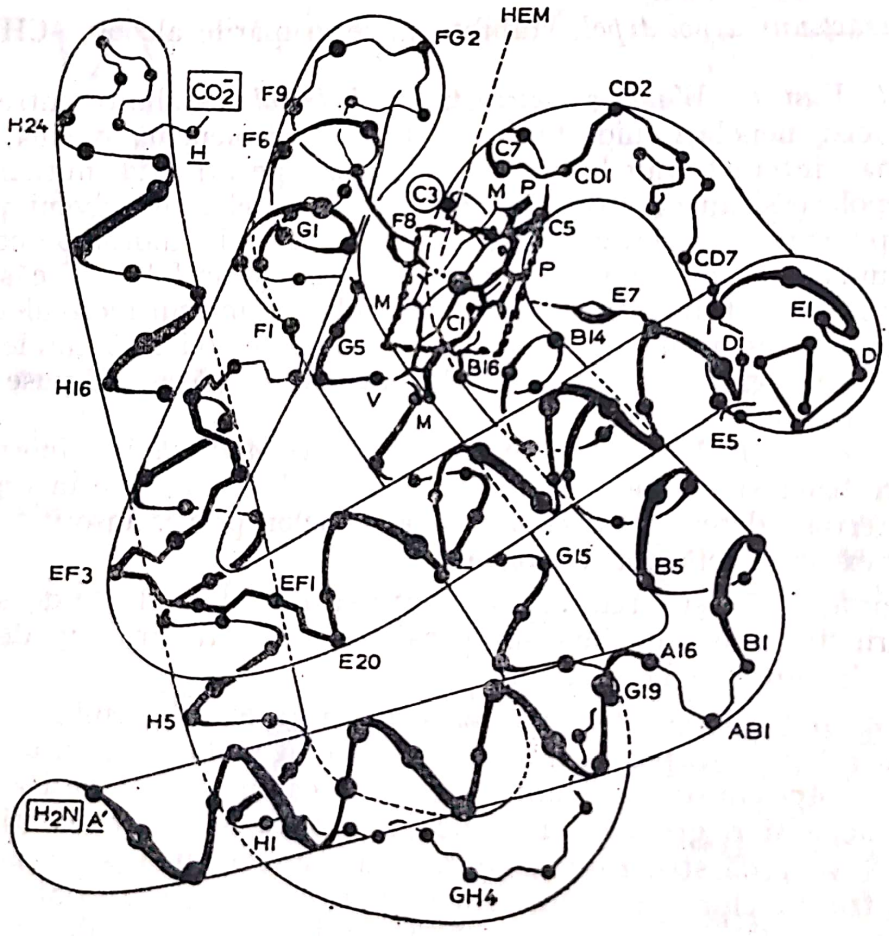


Fig. 4.18. Structura mioglobinei.

(C3, C5, B16, F8), iar grupările N-terminală ($-NH_2$) și C-terminală (—COOH) ale catenei polipeptidice sînt situate în partea stîngă (capetele A și H).

Scanned with OKEN Scanner

Structura cuaternară. O serie de proteine globulare cu mase moleculare ce depășesc $5 \cdot 10^4$ sînt constituite din mai multe subunități. Nivelul de organizare cuaternar este caracteristic proteinelor native care există ca agregate moleculare formate din mai multe catene polipeptidice unite în subunități. Suprastructura cuaternară reprezintă asocierea unor catene polipeptidice denumite *protomeri* într-un ansamblu sau agregat denumit *oligomer*. În general, termenul de *protomeri* se referă la catenele polipeptidice individuale, pe cînd termenul de *subunitate* este folosit adesea pentru a desemna o porțiune funcțională a unei proteine oligomere.

În funcție de numărul protomerilor constituenți ai unei proteine oligomere, structura cuaternară este frecvent formată din *dimeri*, *trimeri*, *tetrameri* etc. Interacțiunile prin care se asamblează subunitățile care constituie agregatul molecular și care stabilizează structura cuaternară nu sînt de natură covalentă, ci reprezintă *legături electrostatice și de hidrogen* localizate la suprafața fiecărei catene polipeptidice sau subunități.

Un exemplu tipic de organizare structurală cuaternară îl constituie *hemoglobina* (Hb), pigment sanguin cu rol în transportul oxigenului molecular. Structura cuaternară a globinei din Hb reprezintă un *tetramer* constituit din patru monomeri (protomeri), respectiv din patru catene polipeptidice: 2 catene α identice (fiecare conținînd 141 aminoacizi) și 2 catene β identice (fiecare conținînd 146 aminoacizi). Cei patru protomeri ai Hb se constituie în cîte două subunități, fiecare subunitate avînd două catene polipeptidice (una α și una β). În Hb, fiecare catenă polipeptidică este cuplată cu o componentă prostetică denunită hem, care conține Fe și care este implicată în transportul O_2. Asocierea celor patru protomeri pentru formarea structurii cuaternare a Hb poate fi redată prin relația: $2\alpha + 2\beta \rightarrow \alpha_2\beta_2$ (tetramer) sau schematic în figura 4.19.

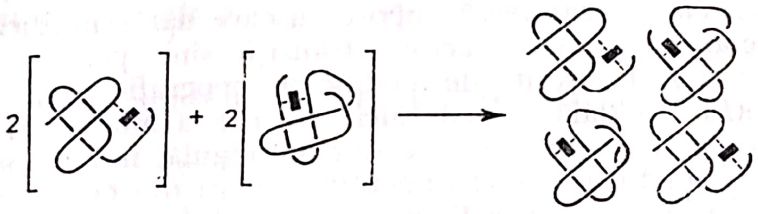
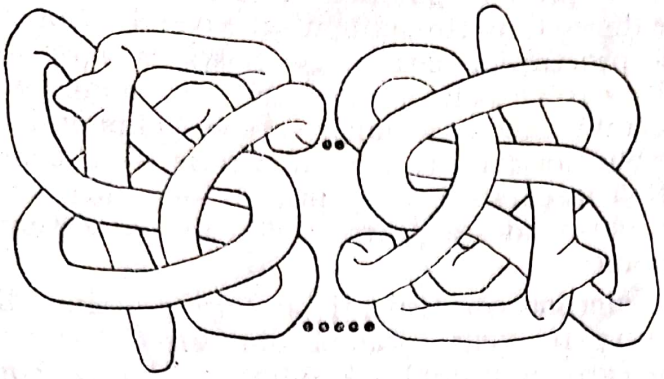


Fig. 4.19. Asocierea protomerilor pentru formarea structurii cuaternare a hemoglobinei (catenă polipeptidică; grupareа hem legată de catena polipeptidică).

Numeroase proteine care acționează ca enzime cu rol în reglarea diferitelor căi metabolice denumite *enzime allosterice* se caracterizează prin existența unui nivel cuaternar de organizare structurală. Astfel, enzima denumită *fosforilaza a* implicată în metabolismul glicogenului este constituită din două subunități identice care, fiecare în parte, sînt inactive; aceste subunități asamblate însă sub forma unei unități dimer, într-o organizare structurală cuaternară, conferă activitatea enzimatică specifică *fosforilazei a* (fig. 4.20).

Ca o concluzie generală referitoare la structura proteinelor, în următoarea diagramă sinoptică prezentată în figura 4.21 se redau profilele celor patru niveluri de organizare structurală ale acestora.

Scanned with OKEN Scanner



I II

Fig. 4.20. Organizarea structurală de tip cuaternar a fosforilazei *a* (dimer I + II).

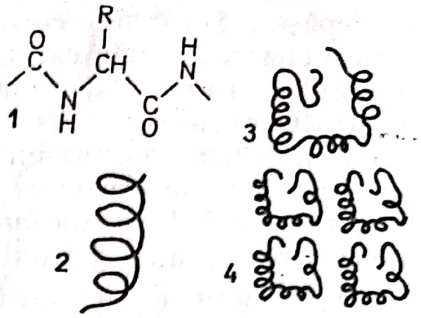


Fig. 4.21. Profilele celor patru niveluri de organizare a structurii proteinelor:
1 — primar; 2 — secundar; 3 — terțiar; 4 — cuaternar.

4.4.1.3. VARIAȚII CONFORMAȚIONALE ALE PROTEINELOR ȘI SEMNIFICAȚIA LOR BIOCHIMICĂ

Noțiunea de conformație definește participarea structurilor secundare și terțiare ale lanțurilor polipeptidice la organizarea spațială a moleculei proteice, determinînd geometria spațială a acesteia. Conformația este un atribut esențial în stabilirea *structurii fine* a oricărei proteine, conferind acesteia specificitate și proprietăți biologice caracteristice. După cum s-a menționat, structura de ansamblu și proprietățile biologice ale proteinelor sînt rezultanta interacțiunii și condiționării reciproce dintre diferitele niveluri de organizare structurală care se reflectă într-o conformație specifică moleculei, conformație determinată și controlată în ultimă instanță prin secvența de aminoacizi. Proteinele nu sînt molecule rigide, ci molecule caracterizate printr-o anumită *flexibilitate*, capabile să suporte ușoare dar semnificative tranziții la alte stări conformaționale; aceste tranziții sînt permise numai între anumite limite și sînt însoțite de modificări topografice discrete și reversibile în geometria spațială a moleculei. Asemenea modificări se denumesc *tranziții conformaționale*. In vivo, ele sînt, de regulă, induse prin interacțiunea proteinei cu anumiți compuși micromoleculari din celulă avînd ca efect o activare sau o inhibare a activității biologice a proteinei respective. De exemplu, capacitatea Hb de a lega oxigenul este stimulată de oxigenul însăși. Aceste modificări conformaționale discrete și reversibile în geometria spațială a structurii unor proteine se definesc ca efecte allosterice, tranzițiile conformaționale respective denumindu-se *tranziții allosterice*. Fenomenul de allosterie se manifestă în cadrul unei ambianțe metabolice bine determinate, nu este permanent și nu implică modificări ale structurii primare. Efectele allosterice stau la baza activității enzimelor cu rol de reglare în procesele metabolice *(enzime allosterice)*.

Structura tridimensională a proteinelor este condiționată și impusă de informația conținută în structura primară. De exemplu, s-a demonstrat că structura de tip globular a enzimei ribonucleaza, constituită dintr-o catenă polipeptidică cu 124 aminoacizi și posedînd 4 punți disulfurice —S—S—, poate fi dezorganizată — în condiții experimentale controlate — sub influența unor reactivi chimici (uree, mercaptoetanol), fără a se afecta însă structura sa primară; conformația nativă a moleculei este astfel abolită prin desfacerea legăturilor disulfurice, obținîndu-se un lanț polipeptidic liniar

Scanned with OKEN Scanner

în care se păstrează intactă secvența originală de aminoacizi, dar care devine funcțional inactiv datorită pierderii activității enzimatice asociată conformației native a ribonucleazei. Prin eliminarea reactivilor, proteina — care a suferit o denaturare reversibilă — redobîndește spontan conformația sa inițială și implicit activitatea sa enzimatică. Acest proces este ilustrat în figura 4.22.

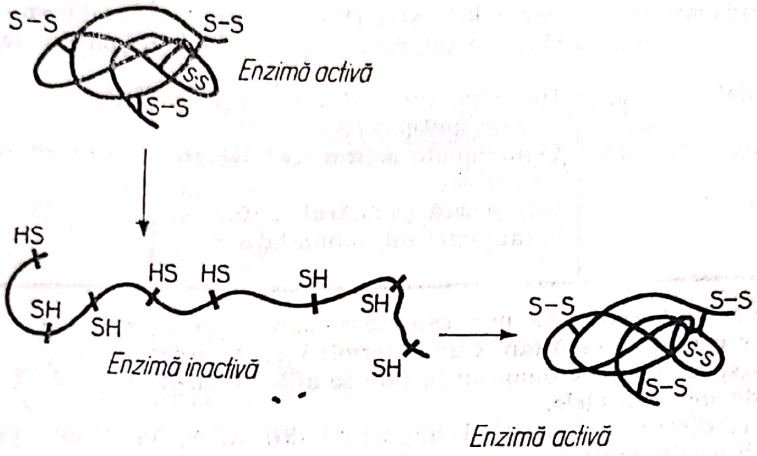


Fig. 4.22. Procesul denaturării reversibile și a redobîndirii conformației inițiale a unei proteine.

Restabilirea conformației native a ribonucleazei cu reformarea punților disulfurice inițiale se realizează deci nu la întîmplare, ci pe baza unei anumite secvențe de aminoacizi. Rezultă deci că structura primară condiționează modul de organizare spațială, respectiv conformația moleculelor de proteine, conformație asociată legic cu existența și manifestarea proprietăților biologice; cu alte cuvinte, *nivelurile secundar și terțiar de organizare structurală sînt programate prin structura primară.*

4.4.1.4. MICROETEROGENITATEA PROTEINELOR

Proteinele pot să manifeste un anumit grad de *variabilitate moleculară*. Astfel, numeroase proteine considerate ca entități distincte prezintă, în realitate, o *microeterogenitate* determinată de existența unor variații moleculare care se reflectă printr-o populație (microeterogenă) de specii moleculare. Microeterogenitatea proteinelor cu activitate enzimatică este recunoscută ca un fenomen cu implicații biologice profunde. Tipurile și cauzele acestor variații moleculare ale proteinelor sînt sintetizate în tabelul 4—6.

Variațiile conformaționale indică posibilitatea unor modificări discrete, restrictive ale structurii spațiale în limite permisive. Existența variantelor conformaționale ale unei proteine sugerează posibilitatea ca o secvență de aminoacizi să dea naștere unui grup de structuri tridimensionale și nu numai unei singure conformații. Variantele conformaționale pot să apară datorită flexibilității catenei polipeptidice care are potențial capacitatea să-și schimbe conformația în funcție de factorii de mediu celular sau de necesitățile metabolice.

Prin *polimerism* se definesc asocieri de entități structurale numite monomeri. Membrii unei serii polimerice se deosebesc între ei prin procedee de caracterizare care se bazează pe masa moleculară sau pe volumul molecular.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 4—6

Variabilitatea moleculară a proteinelor

Tipul variației	Structuri implicate	Cauze
1. Polimerism	Supercuaternară	Structura monomerului
2. Variație conformațională	Secundară și terțiară	Ambianța moleculei
3. Alomerism	Compoziția chimică	Control genetic
a) primar		
— secvențial	Infrastructura primară (secvența de aminoacizi)	Alele* la un locus**
— prostetic	Componente neproteice asociate proteinei	Gene*** la loci diferiți
b) cuaternar	Cuaternară (numărul, natura și aranjamentul subunităților)	Gene la loci diferiți

* Forme diferite (variate) ale unei gene care ocupă același locus în cromozomii omologi. Alela este o unitate ereditară care determină un caracter.

** Regiune specifică pe cromozom în care se află localizată o genă. Un locus poate fi ocupat de una din alele.

*** Unități ereditare, reprezentînd fragmente din ADN, localizate pe cromozomi și care codifică biosinteza unei proteine (enzime).

Alomerismul definește existența unor entități ale căror părți componente sînt diferite. Alomerii se deosebesc între ei prin unele detalii neesențiale ale compoziției lor chimice; alomerismul se referă atît la structura primară cît și la cea cuaternară a moleculei proteice. Două sau mai multe molecule sînt *alomeri primari* dacă moleculele respective diferă printr-un aminoacid din secvență (alomerism primar secvențial) sau dacă secvența aminoacizilor este păstrată, însă moleculele diferă prin cantitatea componentei neproteice (glucide) legată covalent de catena polipeptidică *(alomerism primar prostetic)*.

Alomerismul cuaternar reprezintă un tip de variație moleculară care este posibil pentru proteinele constituite din mai mult decît o singură catenă polipeptidică. Alomerii cuaternari (diferiți prin structura cuaternară) se deosebesc între ei printr-una sau mai multe subunități moleculare (de exemplu, cei 5 alomeri cuaternari ai enzimei lactat dehidrogenaza (LDH) reprezintă 5 tetrameri care se pot forma prin asamblarea a două subunități polipeptidice fundamentale de tip H_4 și de tip M_4, în proporțiile admise printr-o distribuție binominală: H_4; H_3M_1; H_2M_2; HM_3; M_4).

4.4.2. MORFOLOGIA MOLECULELOR PROTEICE

În funcție de forma și aspectul lor, precum și pe baza diferențelor în structura tridimensională și a solubilității în apă, proteinele se încadrează în două mari categorii: proteine fibrilare și proteine globulare (fig. 4.23).

Proteinele fibrilare au un aspect *filiform*, fiind compuse din catene (lanțuri) polipeptidice individuale lungi, în formă de filament, care sînt unite lateral prin legături încrucișate pentru a forma o structură stabilă. Această morfologie conferă proteinelor fibrilare rezistență mecanică și insolubilitate în apă. Ca exemple de proteine fibrilare se menționează: keratinele, fibroina, colagenul, elastinele, fibrinogenul. Proteinele fibrilare posedă, în general, mase moleculare mari, au o structură repetitivă și includ trei subclase: kera-

Scanned with OKEN Scanner

tine, fibroina din mătase și colagenul; fiecare din aceste subclase se caracterizează printr-un tip caracteristic de conformație, și anume: α-helix, planuri β-pliate (paralele și antiparalele) și triplu-helix. Proteinele fibrilare îndeplinesc diferite roluri biochimice: elasticitate, protecție și rezistență mecanică a diferitelor țesuturi, în coagularea sîngelui, în contracția musculară.

Proteinele globulare posedă o structură tridimensională mult *„înfășurată"* care rezultă din încolăciri ale lanțului polipeptidic într-o formă nefibrilară, elipsoidală sau aproape sferică. Proteinele globulare au un aspect compact și sînt, în general, solubile în apă. O proteină globulară tipică, rezultată printr-o înfășurare considerabilă și compactă a lanțului polipeptidic, posedă aproape toate grupările polare ale aminoacizilor hidratate și repartizate la suprafața exterioară a moleculei; în schimb, aproape toate grupările hidrofobe ale aminoacizilor constituenți sînt localizate în interiorul moleculei, ceea ce determină lipsa de acces a moleculelor de apă în această zonă. Proteinele globulare prezintă proporții diferite în α-helix, mioglobina și hemoglobina remarcîndu-se printr-un conținut ridicat în α-helix (80%). Proteinele globulare includ o mare varietate de proteine și îndeplinesc funcții multiple în organism. Toate enzimele sînt proteine globulare.

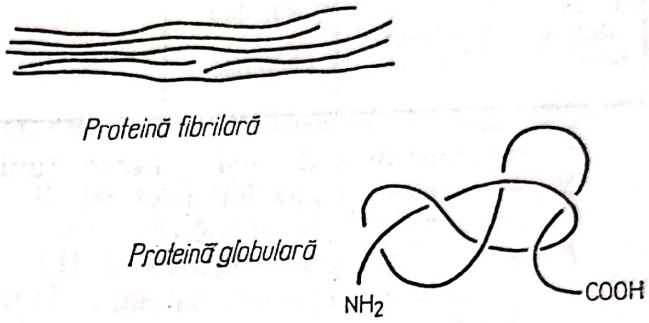


Fig. 4.23. Morfologia moleculelor proteice.

O serie de proteine se caracterizează printr-o morfologie a moleculelor *intermediară* între cea tipic globulară și cea tipic fibrilară.

4.4.3. PROPRIETĂȚILE PROTEINELOR

Proteinele se caracterizează printr-un ansamblu de proprietăți fizico-chimice, chimice și biochimice. Cercetarea exhaustivă a proprietăților proteinelor în scopul caracterizării lor impune existența acestora în stare pură, ceea ce reclamă extracția, izolarea și purificarea lor prin procedee și tehnici laborioase și de mare finețe.

4.4.3.1. PROPRIETĂȚI FIZICO-CHIMICE

Masa moleculară. În funcție de numărul catenelor polipeptidice, precum și de numărul de aminoacizi din care sînt alcătuite, proteinele se caracterizează prin mase moleculare și dimensiuni extrem de diferite. Masele moleculare* ale proteinelor variază de la cîteva mii la cîteva milioane; unele exemple sînt redate în tabelul 4—7. Metodele curente pentru determinarea masei moleculare a proteinelor sînt *ultracentrifugarea* și *gel-filtrarea*.

Prin *ultracentrifugare*, proteinele existente în stare de soluție sînt supuse unui cîmp gravitațional (în jur de 400 000 × g) care determină sedimentarea lor cu viteze diferite. Viteza de sedimentare depinde de forța de gravitație stabilită, de mărimea (talia), forma și densitatea proteinei, ca și de densitatea solventului. Un sistem optic cu care sînt dotate ultracentrifugile analitice

* *Masa moleculară* se poate exprima considerînd ca unitate de masă *daltonul*; *1 dalton* = = masa unui atom de hidrogen = $1{,}67 \cdot 10^{-24}$ g.

Tabelul 4—7

Masa moleculară a unor proteine

Proteine	Masa moleculară	Număr de catene polipeptidice
Insulina	6 000	2
Ribonucleaza	13 700	1
Tripsina	23 800	1
Hemoglobina	68 000	4
γ-Globulina	150 000	4
Miozina	493 000	4
Glutamat dehidrogenaza	1 000 000	—

permite fotografierea poziției, în funcție de timp, a proteinei care se deplasează sub acțiunea cîmpului gravitațional. Pe baza parametrilor menționați, masa moleculară (M) a unei proteine se calculează după formula:

$$M = \frac{SRT}{D(1 - V\rho)}$$

în care:

S este constanta de sedimentare (unitate Svedberg),
R — constanta gazelor perfecte
T — temperatura absolută
D — coeficient de difuzie
V — volumul specific parțial
ρ — densitatea solventului.

Constanta de sedimentare S pentru proteine are valori cuprinse între $1—200.10^{-13}$ s sau 1—200S, deoarece *o unitate Svedberg (S)* este egală cu o constantă de sedimentare de 10^{-13} secunde.

Gel-filtrarea se bazează pe următorul principiu: moleculele de proteină cu mase moleculare diferite parcurg un strat de gel (Sephadex sau poliacrilamidă) cu proprietăți filtrante; moleculele cu dimensiuni mai mari decît porii rețelei de gel nu pot pătrunde în interiorul rețelei și sînt excluse din coloana umplută cu gel; în schimb, moleculele cu dimensiuni mai mici difuzează în gel, în funcție de talia și forma lor, și sînt eluate din coloană în ordinea descreșterii maselor lor moleculare. Astfel, gelurile cu asemenea proprietăți filtrante se comportă ca niște „site moleculare" care „cern" moleculele după dimensiunile lor. Există o relație liniară între logaritmul masei moleculare și volumul de eluție al diferitelor proteine. Determinarea masei moleculare a unei proteine se face pe baza acestei relații, utilizînd o curbă de etalonare realizată, în prealabil, cu proteine de masă moleculară cunoscută.

Proprietăți optice. În lumină ultravioletă, proteinele prezintă un maxim de absobție la $\lambda = 280$ nm (fig. 4.24.) datorită existenței aminoacizilor cu nucleu aromatic (tirozină, triptofan). Pe această proprietate se bazează metoda spectrofotometrică de determinare cantitativă a proteinelor.

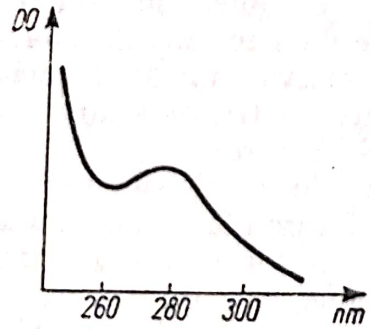


Fig. 4.24. Maximul de absorbție (densitatea optică) a proteinelor la $\lambda = 280$ nm.

În soluții apoase, proteinele manifestă activitate optică levogiră datorată aminoacizilor constituenți care prezintă o aceeași activitate optică.

Proprietăți ionice. Proteinele sînt polielectroliți, posedînd un caracter *amfiionic* sau *amfoter.* Acest caracter este conferit de existența în moleculă a unor grupări polare disociabile ale aminoacizilor, și anume: acide (acid aspartic, acid glutamic), bazice (lizină, arginină), alcool (serină, tirozină). Datorită acestor grupări libere ioniza-

Scanned with OKEN Scanner

bile, proteinele se comportă ca *anioni* (mediu alcalin) sau *cationi* (mediu acid), în funcție de pH (fig. 4.25). Există o valoare a pH-ului la care proporția sarcinilor electropozitive ale moleculei de proteină este egală cu cea a sarcinilor electronegative, caz în care sarcina electrică netă a moleculei devine nulă. pH-ul cu o asemenea valoare poartă denumirea de *punct izoelectric* al proteinei (pH$_i$).

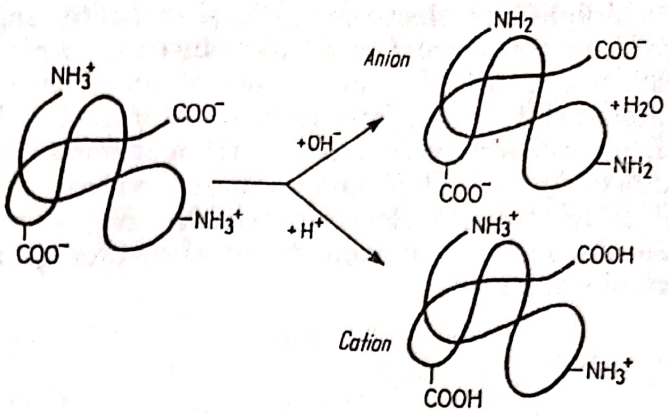


Fig. 4.25. Ionizarea proteinelor în funcție de pH.

Punctul izoelectric este independent de concentrația proteinei și depinde de raportul dintre grupările acide și bazice din molecula fiecărei proteine.

Astfel, numeroase proteine au pH$_i$ în zona slab acidă cu valori cuprinse între pH$_i$ = 4,6 — 5,4, ca de exemplu serumalbumina (pH$_i$ = 4,8) și ovalbumina (pH$_i$ = 4,6); alte proteine, în care predomină grupările acide, au pH$_i$ situat în zona puternic acidă cu valori cuprinse între pH$_i$ = 1,0 — 2,8, ca de exemplu pepsina (pH$_i$ = 1,0); în fine, alte proteine, cu o proporție mare de grupări bazice, au pH$_i$ situat în zona alcalină. În tabelul 4—8 sînt prezentate valorile pH$_i$ pentru diferite proteine.

Tabelul 4—8

Valorile pH$_i$ pentru diferite proteine

Proteine	pH$_i$	Proteine	pH$_i$
Pepsină	1,0	Fibrinogen	5,5
Cazeină	4,6	Serum γ-globulină	6,4—7,2
Ovalbumină	4,6	Hemoglobină	6,9
Serumalbumină	4,8	Mioglobină	7,0
Insulină	5,4	Globină	8,1
Miozină	5,4	Citocromul *c*	10,6

La valorile de pH mai mici decît pH$_i$, proteinele sînt cationi, iar la valor de pH mai mari decît pH$_i$ sînt anioni. Datorită caracterului lor amfoter proteinele manifestă capacitatea de a se comporta ca *sisteme tampon*, participînd astfel la menținerea valorii constante a pH-ului mediului biologic.

Proprietăți electrochimice. Existența grupărilor polare ionizabile conferă proteinelor proprietatea de a migra într-un cîmp electric. Această proprietate denumită electroforetică stă la baza unor tehnici de fracționare a diferitelor tipuri de proteine dintr-un amestec (tehnica electroforezei). Deplasarea unei proteine sub acțiunea cîmpului electric se exprimă printr-un parametru denumit *mobilitatea electroforetică* (u); aceasta reprezintă raportul dintre viteza de migrare V(cm.s^{-1}) și valoarea cîmpului electric E (volți.cm^{-1});

$$u = \frac{V}{E} = \text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{v}^{-1}.$$

Scanned with OKEN Scanner

Mobilitatea electroforetică, şi respectiv separarea proteinelor sînt dependente de pH-ul soluţiei tampon în care se efectuează electroforeza, deoarece disocierea grupărilor ionizabile şi repartizarea sarcinilor electrice ale unei proteine sînt influenţate de valoarea pH-ului. Deoarece proteinele diferă prin $p\mathrm{H}_i$ şi deci prin valoarea globală a sarcinilor electrice, mobilităţile lor electroforetice vor diferi la o anumită valoare de pH şi, pe această bază, ele pot fi fracţionate electroforetic în scop analitic sau preparativ. În figura 4.26 sînt prezentate exemple de electroforegrame efectuate pe diferite suporturi de migrare.

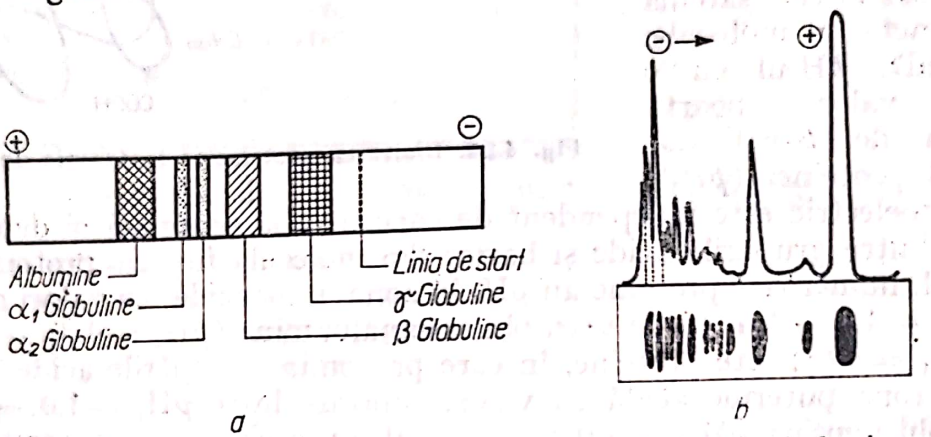


Fig. 4.26. Electroforegrama proteinelor din serul sanguin de bovine: *a* — electroforeză pe hîrtie; *b* — electroforeză în gel de amidon, cu indicarea curbei de integrare a fracţiunilor proteice separate.

Solubilitatea. Majoritatea proteinelor, în special cele globulare, sînt solubile în apă şi soluţii saline; solubilitatea lor depinde preponderent de existenţa grupărilor polare hidrofile (—COOH, —$\mathrm{NH_2}$, —OH, —CO—, —NH—) localizate la suprafaţa moleculelor, grupări care se solvatează fixînd moleculele de apă prin legături de hidrogen. Solubilitatea proteinelor este influenţată de pH care produce un anumit grad de ionizare a moleculelor proteice. La $p\mathrm{H}_i$, solubilitatea proteinelor este minimă, datorită atracţiilor electrostatice ce se exercită între moleculele ionizate a căror sarcină electrică netă este nulă; solubilitatea creşte însă spre regiunile acidă şi alcalină, delimitate de valoarea $p\mathrm{H}_i$ (fig. 4.27). La concentraţii saline scăzute, solubilitatea multor proteine creşte odată cu forţa ionică a solventului datorită măririi polarităţii acestuia; la concentraţii saline mari, solubilitatea proteinelor este diminuată pînă la precipitare datorită competiţiei dintre proteine şi ionii minerali ai solventului pentru moleculele de apă.

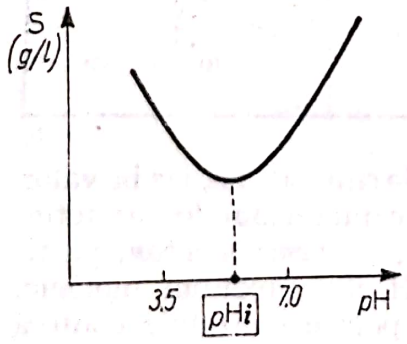


Fig. 4.27. Influenţa pH-ului asupra solubilităţii (*S*) proteinelor.

Caracterul coloidal. În soluţii diluate, proteinele manifestă caracteristicile unor *coloizi hidrofili**, macromoleculele dispersate în soluţie avînd dimensiunile unor particule coloidale (1—100mμ). În soluţii concentrate, particulele coloidale de proteine se asociază, formînd agregate macromoleculare denumite micele. Datorită caracterului lor coloidal, proteinele nu dializează prin membrane semipermeabile.

* ***Coloizii*** sînt sisteme eterogene formate dintr-o *fază dispersată* şi o *fază dispersantă* (sau mediul de dispersie), faza dispersată fiind constituită din particule cu dimensiuni cuprinse între 1 şi 100 mμ. *Coloizii hidrofili* sînt sisteme coloidale la care faza dispersată manifestă afinitate pentru mediul de dispersie care este apa şi cu care se poate îmbiba.

Scanned with OKEN Scanner

Denaturarea proteinelor. Se definește ca procesul prin care structura spațială a proteinelor suferă o *depliere*, o *dezorganizare* sub acțiunea unor agenți fizici și/sau chimici fără însă ca structura primară și deci masa moleculară să fie afectate. Denaturarea proteinelor este rezultatul desfacerii diferitelor legături ce mențin structura secundară și terțiară, ceea ce determină deplierea completă a catenelor polipeptidice care devin astfel întinse și lipsite de organizare spațială specifică. Denaturarea implică deci trecerea de la o conformație sau stare ordonată a moleculelor proteice native la o stare neordonată, însoțită de creșterea entropiei (fig. 4.28).

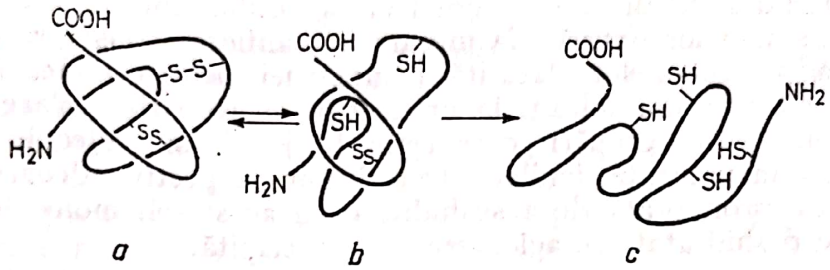


Fig. 4.28. Denaturarea proteinelor:
a — conformație ordonată; *b* — conformație parțial denaturată; *c* — proteină denaturată.

Consecințele denaturării proteinelor se manifestă prin: pierderea activității biologice, diminuarea solubilității, pierderea capacității de a se combina cu apa, creșterea numărului de grupări —SH provenite din desfacerea legăturilor —S—S— intra- sau intercatenare, apariția, prin deblocare și a altor grupări chimice funcționale, modificarea vîscozității și a presiunii osmotice, mărirea activității optice, creșterea valorii pH_i, creșterea susceptibilității la hidroliza enzimatică, intensificarea reacțiilor de culoare etc.

Agenții care provoacă denaturarea proteinelor sînt de natură *fizică* (căldură, agitare, raze X, radiații ultraviolete, ultrasunete) și *chimică* (acizi și baze concentrate, săruri ale metalelor grele, solvenți organici, uree, detergenți). În funcție de durata și intensitatea acțiunii agentului denaturant, procesul de denaturare este, în general, ireversibil, fiind însoțit de modificări profunde ale structurii moleculelor de proteine. În anumite condiții experimentale și în cazul în care durata și intensitatea acțiunii agentului denaturant nu depășesc anumite limite, moleculele de proteină pot fi numai parțial denaturate; în această situație, procesul denaturării este *reversibil*, iar — prin îndepărtarea agentului denaturant — moleculele, a căror structură a fost numai parțial depliată prin denaturare, se pot renatura cu dobîndirea structurii și proprietăților biologice inițiale caracteristice proteinei native.

4.4.3.2. PROPRIETĂȚI CHIMICE

Reacții de culoare. Diferiți aminoacizi constituenți ai proteinelor reacționează cu anumiți reactivi producînd reacții de culoare specifice. Aceste reacții sînt utilizate pentru identificarea proteinelor și se datoresc existenței unor cicluri sau grupări chimice caracteristice diferiților aminoacizi. De exemplu, *reacția biuretului* este o reacție de culoare generală pentru proteine al cărei principiu este următorul: în mediu alcalin și în prezența ionilor Cu^{2+}, proteinele formează o colorație violetă sau albastră-violetă datorită legăturilor peptidice (—CO—NH—). Producerea acestei reacții necesită existența a cel puțin două legături peptidice, iar nuanța culorii depinde de numărul

acestor legături. Reacţia biuretului se bazează pe formarea unor compuşi de tip chelatic între legătura peptidică şi ionul Cu^{2+}; intensitatea culorii fiind proporţională cu concentraţia proteinelor dintr-o soluţie, reacţia biuretului este curent utilizată pentru dozarea colorimetrică a proteinelor.

Reacţii de precipitare. În funcţie de natura reactivilor precipitanţi, proteinele precipită reversibil sau ireversibil.

— *Precipitarea reversibilă* se realizează în prezenţa unor concentraţii mari de electroliţi tari (Na_2SO_4, $(NH_4)_2SO_4$), fără modificarea structurii; proteinele precipitate prin acest procedeu denumit *salifiere* se pot redizolva, după îndepărtarea (dializă, electrodializă) agenţilor chimici de precipitare, păstrîndu-şi starea lor nativă. Ca mecanism, salifierea constă în deshidratarea parţială a proteinelor datorită competiţiei pentru moleculele de apă dintre ionii electroliţilor folosiţi la precipitare şi grupările polare sau ionice ale proteinei. Aceste grupări, care reţin în jurul lor molecule de apă, se deshidratează în prezenţa ionilor electroliţilor respectivi, deoarece aceştia au o tendinţă pronunţată de a se hidrata; în acest fel, moleculele de proteină parţial deshidratate se aglomerează şi precipită.

— *Precipitarea ireversibilă* este însoţită de modificări profunde ale structurii proteinelor care se denaturează şi devin astfel inapte de a se redizolva, rămînînd în stare precipitată. Ca exemple de reactivi de precipitare ireversibilă sînt acizii minerali concentraţi (HNO_3, HCl), acizii organici (acidul tricloracetic, acidul sulfosalicilic, acidul picric), săruri ale metalelor grele (Pb^{2+}, Hg^{2+}, Cu^{2+}, Ag^{+}).

Hidroliza. În prezenţa acizilor, a bazelor sau a enzimelor proteolitice proteinele sînt scindate prin hidroliză pînă la stadiul de aminoacizi:

$$\text{Proteină} \xrightarrow{HOH} \textit{Aminoacizi}$$

Coagularea. Sub acţiunea căldurii, proteinele precipită ireversibil datorită denaturării lor. Coagularea proteinelor prezintă un grad maxim la pH_i.

4.4.3.3. PROPRIETĂŢI BIOCHIMICE. REACŢIA ANTIGEN—ANTICORP

Ca reflectare a relaţiei dintre structura chimică şi funcţie, proteinele prezintă proprietăţi biochimice specifice care se manifestă prin funcţiile diferite pe care ele le pot exercita: enzime, hormoni, de contracţie, de transport, respiratorii, imunologice etc. Diversitatea funcţională a proteinelor constituie reflectarea unei proprietăţi generale a lor, şi anume *specificitatea.*

Una din manifestările specificităţii proteinelor este reprezentată prin proprietăţile lor imunologice, la baza cărora stă reacţia antigen-anticorp. Procesele imunologice se definesc ca *reacţii de apărare* ale organismului, reacţii prin care se realizează neutralizarea toxinelor, a microorganismelor sau chiar ale celulelor organismului care au dobîndit caractere anormale.

Antigenii reprezintă proteine sau alte macromolecule care sînt străine pentru organismul în care au pătruns şi care odată introduse în organism — pe cale naturală sau prin injectare — declanşează elaborarea sau biosinteza unor proteine specifice de apărare denumite *anticorpi.* Antigenul reacţionează cu anticorpii formaţi determinînd reacţia *antigen-anticorp,* reacţie prin care acţiunea nocivă a antigenului este anihilată. Natura chimică a antigenelor este diferită: proteine, poliglucide, asociaţii complexe între glucide, lipide şi polipeptide; ca antigeni, deci ca agenţi care pot provoca formarea

Scanned with OKEN Scanner

de anticorpi, se comportă și bacteriile, virusurile sau diferiți compuși reprezentînd un mozaic mai mult sau mai puțin complex de molecule. În general, antigenii se caracterizează prin mase moleculare ce depășesc 1.10^4.

Conceptul de antigen prezintă o dublă semnificație: pe de o parte, desemnează o substanță *străină* organismului care reacționează cu anticorpii corespunzători, iar pe de altă parte reprezintă o substanță *imunogenă* care provoacă reacția imunitară prin formare de anticorpi.

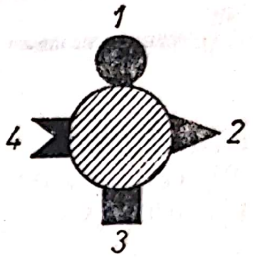


Fig. 4.29. Structura stilizată a unui antigen:
1 – 4, determinanți antigenici.

Molecula de antigen conține mai multe zone de combinare denumite *determinanți antigenici*, la nivelul cărora se leagă moleculele de anticorp; antigenul este deci „polivalent", iar determinații antigenici sînt reprezentați prin diferite grupări chimice (—NH_2, —OH, —SH etc.) sau radicali de aminoacizi ciclici (Phe, Tir, Trp). Structura unui antigen polivalent este schematizată în figura 4.29.

Anticorpii sau imunoglobulinele sînt substanțe de natură proteică cu rol de *apărare*, a căror biosinteză este declanșată de către antigen și care posedă capacitatea de a reacționa specific cu antigenul care a provocat formarea lor. Deci, sinteza anticorpilor este determinată de un stimul antigenic și constituie *răspunsul imun* în cadrul reacției de apărare a organismului împotriva unor agenți nocivi care acționează ca antigeni. Procesul biochimic prin care se produce formarea anticorpilor se numește *imunizare*, iar animalul care a biosintetizat anticorpi devine *imunizat*. Imunitatea față de diferite boli infecțioase poate fi adesea conferită prin injectarea în cantități foarte mici a unor componente macromoleculare (antigeni) din microorganisme sau viruși parțial inactivate (vaccinare). *Serul imun* sau *antiserul* reprezintă serul sanguin al unui animal care a fost imunizat.

Anticorpii se caracterizează printr-o specificitate extrem de diversă, deoarece ei reflectă diversitatea structurilor recunoscute ca străine pentru organismul solicitat să producă anticorpi. Chiar în cazul în care antigenul este o specie moleculară unică, anticorpii formați pot reprezenta o populație moleculară eterogenă; un antigen declanșează astfel producerea unei *grupe de anticorpi* care sînt apți să reacționeze cu determinanți diferiți de pe molecula antigenului. Anticorpii constituie un grup mare de proteine aparținînd categoriei γ-globulinelor prezente în serul sanguin. Datorită proprietăților lor imunologice, anticorpii se mai numesc și *imunoglobuline* (Ig) și se clasifică în trei clase majore: IgG, IgA și IgM. Fiecare clasă se divide în mai multe subgrupe care sînt produse de celule specializate (splină, măduvă, celule limfatice) și eliberate în ser, unde pot apare în concentrații ridicate (pînă la cîteva mg/ml). Spre deosebire de antigeni, anticorpii sînt „bivalenți"*, molecula lor conținînd două *situs-uri* sau *zone de combinare* la nivelul cărora se leagă antigenii. Aceste situs-uri se caracterizează printr-o anumită organizare spațială (stereospecificitate) care este complementară determinanților antigenici (fig. 4.30).

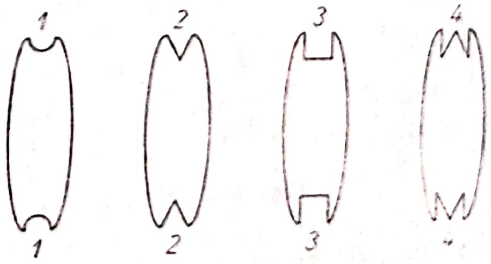


Fig. 4.30. Reprezentarea zonelor specifice de combinare (1—4) ale anticorpilor.

* Excepție fac macroglobulinele

Scanned with OKEN Scanner

Structura chimică generală a unei imunoglobuline este reprezentată în figura 4.31. Molecula de imunoglobulină (anticorp) apare constituită din două lanțuri polipeptidice „grele" (H) identice (M = 52 000) și din două lanțuri „ușoare" (L) identice (M = 23 000); aceste lanțuri polipeptidice sînt legate prin legături disulfurice intercatenare. Fragmentele *Fab* conferă mole-

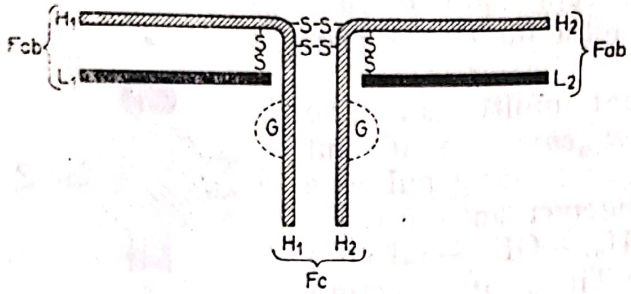


Fig. 4.31. Structura generală a unei molecule de imunoglobină:

H_1, H_2 — lanțuri polipeptidice „grele"; L_1, L_2 — lanțuri polipeptidice „ușoare"; *G* — componentă glucidică; *Fab* — fragmente capabile să se combine cu antigenul; *Fc* — fragment fără afinitate pentru antigen.

culei de anticorp proprietatea de a se combina cu antigenul respectiv; cele două fragmente moleculare *Fab* determină „bivalența" moleculei de anticorp și deci capacitatea de a se combina (lega) cu două molecule de antigen (Ag). Variabilitatea structurii primare la nivelul segmentelor N-terminale ale Fab apare ca fiind baza structurală a specificității anticorpilor.

Cele două situs-uri de combinare prezente pe aceeași moleculă de anticorp (Ac) au aceeași specificitate și participă la realizarea reacției antigen-anticorp al cărei produs este un complex inactiv *antigen-anticorp* (AgAc): Ag + Ac → *AgAc*.

Reacția antigen-anticorp constituie un proces imunologic de apărare a organismului și se manifestă prin blocarea, respectiv neutralizarea antigenilor pătrunși în organism a căror acțiune nocivă este astfel anihilată. Reacția antigen-anticorp este stereospecifică, iar combinarea între Ac și Ag are la bază existența unei complementarități structurale între situs-ul Ac și determinații antigenici. O schemă intuitivă a reacției antigen-anticorp prin care Ag este neutralizat de Ac cu formarea unei *rețele* (precipitină) se redă în figura 4.32. Reacția antigen-anticorp este însoțită de formarea de precipi-

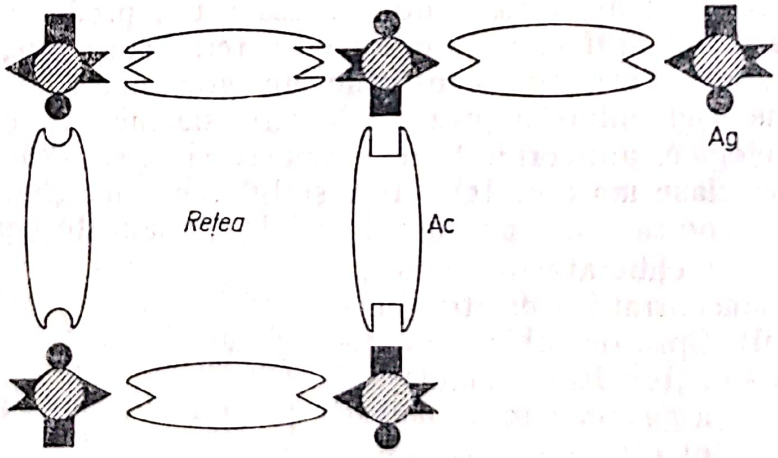


Fig. 4.32. Mecanismul schematic al reacției antigen-anticorp.

tate sau de aglutinare și ea determină o stare de rezistență specifică a organismului definită ca stare de *imunitate*. În acest sens, imunitatea creată, de exemplu prin vaccinarea animalului, se datorește unei *„memorii" imunitare* a anticorpilor biosintetizați de către organism în cadrul răspunsului imun.

Scanned with OKEN Scanner

4.4.4. DESCRIEREA SUMARĂ A UNOR TIPURI DE PROTEINE

Proteinele sînt constituite numai din aminoacizi. Cele de origine animală se clasifică în următoarele grupe: Albumine, Globuline, Histone, Protamine, Scleroproteine. Majoritatea proteinelor ca de exemplu: albuminele, globulinele, histonele, protaminele sînt de tip globular; scleroproteinele aparţin însă proteinelor de tip fibrilar.

4.4.4.1. ALBUMINE

Sînt proteine globulare uşor solubile în apă, în soluţii saline, în acizi şi baze diluate. În compoziţia lor participă toţi aminoacizii, cu excepţia glicocolului. În general, albuminele se caracterizează printr-o proporţie mică a conformaţiei α-helix şi printr-o amplă structură terţiară.

În soluţie, albuminele prezintă o mare stabilitate datorită existenţei la suprafaţa moleculelor a grupărilor ionizate încărcate cu aceeaşi sarcină electrică, grupări care, prin respingere electrostatică, crează o stare de dispersie accentuată a moleculelor. Albuminele sînt uşor cristalizabile, precipită numai în prezenţa soluţiilor saturate de $(NH_4)_2SO_4$ sau Na_2SO_4, iar prin încălzire la 60° — 70°C coagulează. În comparaţie cu alte proteine, albuminele sînt omogene la electroforeză şi manifestă cea mai mare mobilitate electroforetică (v. fig. 4.26).

Albuminele sînt răspîndite în citoplasmă, precum şi în diferite lichide ale organismului animal. Astfel, *serumalbuminele* se găsesc în plasma sanguină (52 — 62%), *lactoalbumina* în lapte, *ovalbumina* în albuşul de ou, *mioalbumina* în ţesutul muscular etc. O serie de alte albumine sînt de origine vegetală, fiind răspîndite în seminţe, legume, fructe etc. În organism, albuminele îndeplinesc diferite funcţii ca: reglarea presiunii osmotice a sîngelui, tamponarea *p*H-ului sanguin, transportul unor substanţe (acizi graşi, anioni, medicamente etc.), rezervă de proteine etc.

4.4.4.2. GLOBULINE

Sînt proteine insolubile sau greu solubile în apă, însă solubile în soluţii saline şi baze diluate. Stabilitatea lor în soluţie este mai mică decît cea a albuminelor întrucît grupările ionizate de la suprafaţa moleculelor posedă sarcini electrice de semn contrar, ceea ce determină micşorarea forţelor de respingere dintre molecule care au astfel tendinţa de a se agrega. Globulinele serice pot fi separate de albumine cu care coexistă, deoarece, spre deosebire de albumine, precipită la concentraţii mai mici (50%) de $(NH_4)_2SO_4$. Globulinele au mase moleculare mai mari decît albuminele şi sînt mai greu cristalizabile decît acestea.

Globulinele sînt cele mai răspîndite proteine globulare din organismul animal. Ca exemplu de globuline se menţionează: *serumglobuline* şi *fibrinogenul* din plasma sanguină, *lactoglobulina* din lapte, *ovoglobulina* din ou şi *miozina* — proteina contractilă din muşchi.

Globulinele din plasma sanguină reprezintă 38—48% şi sînt eterogene, separîndu-se prin electroforeză în următoarele fracţiuni: α_1- şi α_2-globuline, β_1- şi β_2-globuline şi γ-globuline (v. fig. 4.26). Valorile cantitative ale acestor fracţiuni variază la diferite specii animale, precum şi funcţie de anumite stări patologice.

Scanned with OKEN Scanner

4.4.4.3. HISTONE

Reprezintă proteine cu *caracter bazic*, datorită conținutului ridicat (20—30%) în aminoacizi diaminomonocarboxilici: arginina, histidina, lizina; sînt coagulabile prin căldură, mai ales în prezența electroliților și pot fi hidrolizate sub acțiunea pepsinei. Histonele se găsesc ca proteine libere în leucocite, sperma de pești etc., dar mai cu seamă sub formă de nucleoproteide (nucleohistone) asociate cu acizi nucleici în nucleul diferitelor celule glandulare (pancreas, timus), celule spermatice, eritrocite nucleate etc. Histonele par a fi implicate în reglarea activității genelor.

4.4.4.4. PROTAMINE

Prezintă un *caracter bazic* mai accentuat decît histonele, conținutul lor în aminoacizi diaminomonocarboxilici (arginină, histidină, lizină) fiind de aproximativ 80%. Protaminele se mai diferențiază de histone și prin următoarele caracteristici: au o masă moleculară mică, respectiv o structură mai puțin complexă, nu coagulează la încălzire și nu sînt hidrolizate de pepsină. Din compoziția protaminelor lipsesc unii aminoacizi ca: tirozina, fenilalanina, triptofanul și tioaminoacizii. Protaminele se găsesc, în special, în celulele spermatice ale peștilor, existînd în combinație cu acizii nucleici sub formă de nucleoproteide.

4.4.4.5. SCLEROPROTEINE

Sînt proteine de tip *fibrilar*, exercitînd în organismul animal un rol de susținere, protecție și rezistență mecanică. În general, ele intră în constituția țesuturilor conjunctive, de susținere și epidermice. Proprietățile mecanice caracteristice scleroproteinelor se datoresc formei fibrilare alungite a moleculelor lor, precum și faptului că în organism unele se află în stare solidă. Spre deosebire de alte proteine, scleroproteinele se caracterizează și printr-o mare rezistență chimică: sînt insolubile în apă, în soluții acide, alcaline, saline și nu sînt hidrolizate sub acțiunea enzimelor proteolitice. Sub raportul compoziției chimice, scleroproteinele se remarcă prin: conținut ridicat în O, conținut scăzut în N, proporție mare de glicocol și chiar de cistină. Grupa scleroproteinelor include următoarele tipuri principale de proteine: keratine, colagene, elastine, fibroina; în această grupă pot fi integrate, de asemenea, miozina și fibrinogenul.

— *Keratinele* sînt proteinele constituente ale epidermei, părului, penelor și formațiunilor cornoase (unghii, copite, coarne). Îndeplinesc un rol de protecție și se disting printr-o proporție ridicată de sulf (~ 3% în firul de lînă și păr); conținutul ridicat în cistină și respectiv legăturile multiple —S—S— intra- și intercatenare le conferă insolubilitate, rezistență mecanică și elasticitate. Nu sînt hidrolizate de enzimele proteolitice, cu excepția celor existente în molia de haine.

— *Colagenele* constituie componentele proteice principale din țesutul conjunctiv, ligamente, tendoane, cartilagii, piele; aproximativ 95% din materia organică a oaselor și cartilagiilor este reprezentată de colagen. Colagenele se remarcă printr-un conținut ridicat de *glicocol*, *prolină* și *hidroxiprolină*. Ele sînt insolubile în apă și rezistente la acțiunea enzimelor proteolitice. Prin fierbere cu apă, moleculele fibrilare de colagen sufăr modificări structurale profunde, cu desfacerea legăturilor intercatenare și transformare consecutivă în *gelatine* care sînt solubile și hidrolizabile de către enzimele proteo-

Scanned with OKEN Scanner

litice; prin răcire, gelatinele astfel obținute se transformă în stare de gel. Gelatinele sînt proteine incomplete în aminoacizi, din compoziția lor lipsind tirozina, triptofanul și cistina. În prezența taninurilor și a sărurilor de crom, colagenul din piele se transformă într-un produs rezistent și neputrescibil, proces pe care se bazează tăbăcirea pieilor. Prin acest proces, se produce o supercontracție ireversibilă a fibrelor de colagen.

— *Elastinele* participă la structura fibrelor elastice din artere și tendoane, manifestînd proprietăți elastice și termoelastice. Elastinele prezintă analogii cu colagenele; se deosebesc însă de acestea prin: incapacitatea de a fi convertite în gelatine, proporția mai mică de prolină și hidroxiprolină, preponderența glicocolului și leucinei.

— *Fibroina* este principala proteină (2/3) din mătasea produsă de viermele de mătase (Bombix mori), în care se găsește asociată cu o altă proteină denumită *sericina*. Fibroina este o proteină fibrilară tipică, a cărei moleculă este exagerat de lungă în raport cu diametrul său (aprox. 100/1). Structura fibroinei este asemănătoare β-*keratinei* („planuri pliate"), cu deosebirea că lanțurile polipeptidice sînt orientate antiparalel. Secretarea fibroinei prin orificiul foarte îngust al glandei viermelui de mătase și întinderea firului pe care acesta o realizează sînt factori care produc orientarea lanțurilor polipeptidice într-o rețea de tip β-*keratină*. Aminoacizii predominanți în fibroină sînt glicocolul și alanina, urmați în ordine de serină și tirozină. Fibroina este o proteină insolubilă, spre deosebire de sericină care este solubilă în apă caldă.

— *Miozina* este o *proteină contractilă* a țesutului muscular. Datorită proprietăților sale contractile, precum și proprietății sale enzimatice (ATP-ază), miozina constituie suportul biochimic al contracției musculare. Molecula de miozină se caracterizează printr-o mare elasticitate. Ca arhitectură moleculară, miozina are aspectul unei tije lungi și subțiri (20Å) care, la unul din capete, prezintă o regiune îngroșată (30—60Å). Structura moleculei constă din trei catene polipeptidice înfășurate elicoidal și strînse laolaltă într-o configurație răsucită; fiecare din cele trei helixuri paralele se înfășoară, totodată, într-un segment terminal cu aspect aproximativ globular, la o extremitate a moleculei. Miozina manifestă astfel proprietăți caracteristice atît proteinelor fibrilare cît și celor globulare (vezi cap. 11.1).

— *Fibrinogenul* este o proteină fibrilară solubilă de tipul α-keratinei existentă în plasma sanguină; constituie aproximativ 4% din totalul proteinelor plasmei sanguine și are un rol esențial în procesul de coagulare a sîngelui, proces în care fibrinogenul se transformă ireversibil în *fibrină* insolubilă.

Conversia fibrinogenului în fibrină în prezența trombinei, fibrinazei și a ionilor Ca^{2+} este stadiul final al unui lanț complex de reacții enzimatice, implicînd cel puțin 10 factori care intervin în procesul de coagulare a sîngelui. Acest complex de reacții funcționează ca un „*amplificator enzimatic*" supus unor mecanisme de reglare prin feed-back negativ sau pozitiv.

4.5. HETEROPROTEIDE

4.5.1. CARACTERIZARE GENERALĂ ȘI CLASIFICARE

Proteinele, în enorma lor diversitate structurală, sînt apte de a lega o varietate de compuși chimici cu masă moleculară foarte diferită, formînd ansambluri moleculare eterogene ca structură. Heteroproteidele reflectă un

asemenea principiu de organizare structurală și reprezintă *proteine conjugate* care rezultă din asocierea unei componente proteice și a unei componente neproteice denumită *componentă sau grupare prostetică*. Componenta prostetică este de natură chimică foarte diversă și se fixează de componenta proteică prin legături covalente sau prin interacțiuni slabe de tip ionic, respectiv apolar.

Heteroproteidele se clasifică în funcție de natura componentei prostetice și împrumută — de regulă — denumirea acesteia. Grupele principale de heteroproteide sînt următoarele: *metalproteide, fosfoproteide, glicoproteide, lipoproteide, cromoproteide, nucleoproteide.*

4.5.2. DESCRIEREA ȘI FUNCȚIILE HETEROPROTEIDELOR

4.5.2.1. METALPROTEIDE

Sînt heteroproteide în care componenta prostetică o constituie un *metal* (Fe, Cu, Mn, Zn, Co, Mg etc.). La stabilirea legăturii dintre metal și proteină sînt implicate diferite grupări polare libere aparținînd catenelor laterale (R) ale aminoacizilor din molecula proteică. După toate probabilitățile, componenta proteică trebuie să prezinte o anumită regiune din moleculă susceptibilă de a stabili legături cu metalul, în conformitate cu distribuția spațială a grupărilor apte de a forma asemenea legături. Metalul se fixează de componenta proteică prin anumite grupări chimice denumite *liganzi*, grupări care pot dona electroni metalului; se stabilesc astfel legături covalente coordinative, iar metalul devine coordinat (fig. 4.33). Metalul fixat prin componenta proteică are capacitatea de a stabili legături ale proteinei și cu alți liganzi reprezentînd molecule mici, cu formarea unui complex intern denumit *chelat*. Structura chelatului se caracterizează printr-un „ciclu" în care se stabilesc covalențe coordinative între atomii de N sau O ai ligandului și ionul metalic (Me) coordinat. Asemenea structuri cu caracter de chelat sînt posibile în metalenzime, structuri care explică mecanismul funcțional al unor enzime în reacțiile biochimice pe care acestea le catalizează.

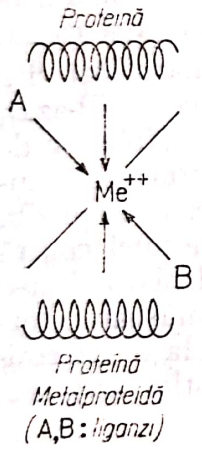


Fig. 4.33. Structura generală a unei metalproteide:
A, B — liganzi.

În tabelul 4.9 sînt menționate unele exemple de metalproteide conținînd Fe, precum și unele caracteristici pe

Tabelul 4—9

Metalproteide cu fier

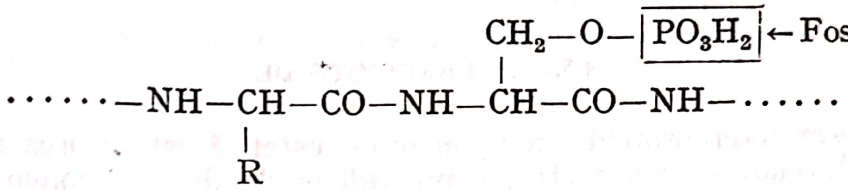
Fierproteide	Conținut % Fe	Sediul	Funcția
Hemoglobina	0,34	Hematii	Transportor de O_2
Feritina	23	Ficat	Depozit de Fe al organismului
Siderofilina	0,12	Splină și plasmă	Transportor de Fe
Transferina (conține și Cu sau Zn)	—	Plasmă	Transportor de Fe
Ovotransferina	—	Albuș de ou	Transportor de Fe
Lactotransferina		Lapte	Transportor de Fe
Mioglobina	0,34	Mușchi	Transport și rezervă de O_2 în mușchi.

Scanned with OKEN Scanner

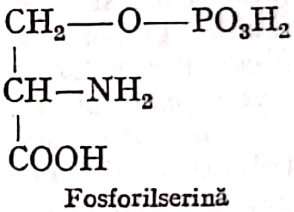
care acestea le prezintă. În plasma sanguină se află și o cupruproteidă de culoare albastră denumită *ceruloplasmină;* aceasta conține 8 atomi de cupru per moleculă și are rol în transportul cuprului în sînge.

4.5.2.2. FOSFOPROTEIDE

Sînt heteroproteide în care componenta prostetică este reprezentată de *radicalul acidului ortofosforic* (H_3PO_4). În structura fosfoproteidelor, acidul fosforic este legat sub forma unei legături *ester* cu gruparea alcool ($-CH_2OH$) a serinei (cel mai frecvent) sau cu cea a treoninei ($>CHOH$). În principiu, un fragment din structura fosfoproteidelor poate fi redat astfel:



Deci, componenta care introduce eterogenitatea în structura catenei polipeptidice a fosfoproteidelor este acidul ortofosforic sub forma *fosforilserinei* (ester fosforic al serinei). Existența acidului fosforic în molecula fosfoproteidelor le conferă acestora un caracter acid și, în consecință, proprietatea de a forma săruri. În organismul animal fosfoproteidele se găsesc ca săruri de calciu sau potasiu și predomină în lapte și ouă, avînd un rol important în hrănirea animalelor tinere și respectiv a embrionului.



Fosforilserină

Principalele *tipuri de fosfoproteide* sînt: cazeinele, ovovitelinele și fostovitelinele.

— *Cazeine.* Reprezintă fosfoproteidele din lapte, unde se găsesc sub formă de *cazeinat de calciu* solubil; cazeinele constituie aproximativ 80% din totalul proteinelor din lapte (4%). Cazeinele sînt substanțe eterogene, constituind un ansamblu alcătuit din 3 sau mai multe fracțiuni denumite generic α-, β- și γ-cazeine. Aceste fracțiuni diferă între ele prin raporturile cantitative între aminoacizii componenți, prin mobilitatea electroforetică și prin conținutul în P. Cazeinele nu coagulează prin fierberea laptelui și exercită, totodată, un rol de protecție asupra albuminelor și globulinelor din lapte pe care le mențin necoagulate. Cazeinele sînt însă coagulate și parțial hidrolizate în prezența unor enzime proteolitice ca *chimozina* (renina) — existentă în stomacul animalelor tinere — și pepsina. În procesul de coagulare care necesită și prezența ionilor Ca^{2+} se formează un produs denumit paracazeinat de calciu ce rezultă prin clivarea enzimatică a cazeinei; paracazeinatul de calciu este insolubil și digerat ulterior de diferite enzime proteolitice pînă la stadiul de aminoacizi. Paracazeinatul de calciu este componenta principală a brînzei. Cazeinele sînt insolubile în mediu acid, fapt care explică precipitarea lor și separarea zerului din lapte în condițiile fermentației lactice; în această fermentație se produce acid lactic care acidifică laptele și astfel cazeinele sînt precipitate.

Coagularea laptelui în stomac este un proces biochimic de mare importanță întrucît permite utilizarea eficientă de către organism a proteinelor conținute în lapte; în absența coagulării, tranzitul laptelui sub formă lichidă

ar fi prea rapid, caz în care proteinele nu ar putea fi utilizate prin degradarea lor la aminoacizii necesari organismului. Cazeinele sînt *proteine „complete"* conținînd practic toți aminoacizii esențiali, ceea ce conferă laptelui — în corelație cu alte componente biochimice pe care le conține — atributul unui aliment cu valoare nutritivă completă.

— *Ovoviteline.* Sînt fosfoproteide existente în gălbenușul de ou; conțin peste 2% fosfor și sînt, de regulă, asociate cu lecitinele. Rolul fiziologic al ovovitelinelor este de a furniza fosforul și aminoacizii necesari dezvoltării embrionului și animalelor tinere. Din sîngele găinilor ouătoare s-au izolat unele substanțe denumite serumviteline care sînt analoage ovovitelinelor.

— *Fosfoviteline.* Sînt, de asemenea, fosfoproteide existente în gălbenușul de ou, caracterizate printr-un conținut mai ridicat de P ($\sim 10\%$) și printr-o proporție a serinei de peste 34%.

4.5.2.3. GLICOPROTEIDE

În aceste heteroproteide, componenta prostetică este reprezentată de o substanță din clasa glucidelor. În glicoproteide predomină componenta proteică, pe cînd în mucopoliglucide predomină componenta glucidică. În ansamblul ei, componenta glucidică din glicoproteide prezintă grade variate de complexitate structurală: monoglucide, diglucide, poliglucide eterogene. Unitățile de glucide care participă frecvent la alcătuirea componentei prostetice a glicoproteidelor sînt: *hexoze* (glucoză, manoză, galactoză), *pentoze* (xiloză), *hexozamine* (glucozamina), *derivați acetilați ai hexozaminelor* (*N*-acetilglucozamină, *N*-acetilgalactozamină), *acizi uronici* (acid glucuronic, acid galacturonic), *acidul neuraminic, acidul sialic* etc.

Glicoproteidele au o răspîndire largă în organismul animal, fiind distribuite în diverse țesuturi, în plasmă, în secreția mucoaselor, în salivă, în umoarea vitroasă, în cordonul ombilical, în albușul de ou etc.; se găsesc, de asemenea, asociate cu unele enzime și hormoni. Ele îndeplinesc roluri diferite ca: constituenți plasmatici ai celulelor; protecția mucoaselor gastrointestinale, ale aparatului respirator și urogenital față de acțiunea enzimelor proteolitice, a unor compuși chimici sau agenți mecanici; inhibitori ai aglutinării hematiilor; componente specifice de grup sanguin etc.

Ca tipuri principale de glicoproteide se menționează:

— *Glicoproteidele sanguine:* conțin glucide în proporție de 10—15% și există sub formă de trei fracțiuni electroforetice distincte; sînt asociate, în special, cu fracțiunea α_1-globulină din plasmă. Creșterea cantității de glicoproteide sanguine reflectă anumite dereglări metabolice provocate de stări patologice (boli infecțioase etc.).

— *Glicoproteide ca substanțe specifice de grup sanguin:* se găsesc în special în eritrocite; componenta glucidică (constituită din 10—15 oze și derivați ai acestora), în asociere cu o sfingolipidă, determină specificitatea de grup sanguin.

— *Ovomucoidul* și respectiv *avidina* sînt glicoproteide existente în albușul de ou. Avidina din albușul de ou crud se combină cu vitamina denumită biotină formînd un complex inactiv; la încălzire, avidina se inactivează prin denaturare și eliberează biotina din complexul inactiv pe care organismul o poate astfel utiliza. Avidina a fost semnalată și în oviductul de găini, ca și în celulele spermatice; prezența avidinei în organele de reproducție sugerează un anumit rol pe care ea îl poate exercita în fiziologia reproducției.

Scanned with OKEN Scanner

4.5.2.4. LIPOPROTEIDE

În lipoproteide componenta prostetică este de natură *lipidică* şi anume: fosfolipide, trigliceride, colesterol liber sau esterificat. Compoziţia şi valorile procentuale în care se află componentele unor lipoproteide sînt redate în tabelul 4—10.

Tabelul 4—10

Tipuri de lipoproteide şi compoziţia lor

Provenienţă	Lipoproteide (fracţiuni)	Masă moleculară	Compoziţie %			
			Proteine	Fosfolipide	Trigliceride	Colesterol (liber + esterificat)
Plasmă sanguină	— Chilomicroni	$1.10^9 - 1.10^{10}$	4	7,5	78	10
	— Cu densitate foarte mică	$5 - 10.10^6$	8	19	55	18
	— Cu densitate mică	2.10^6	21	28	10	40
	— Cu densitate mare	$1 - 4.10^5$	58	25	6	12
Gălbenuş de ou	— β-Lipovitelina	4.10^5	78	12	9	1
Lapte	— Cu densitate mică	4.10^6	13	52	35	0

Lipoproteidele circulante din plasma sanguină şi limfă se diferenţiază, pe baza densităţii lor, în mai multe *fracţiuni*, şi anume: chilomicroni ($d = 0{,}995$), lipoproteide cu densitatea foarte mică ($d < 1{,}006$), lipoproteide cu densitate mică ($d < 1{,}065$), lipoproteide cu densitate mare ($d < 1{,}200$).

Chilomicronii reprezintă asocieri sub formă de *micele lipoproteidice* constituite din lipide de diferite tipuri şi proteine; ei se caracterizează prin mase moleculare foarte mari şi pot forma picături de lipide care conferă plasmei o turbiditate mai mult sau mai puţin pronunţată.

În lipoproteide principala forţă de legătură dintre componenta proteică şi cea lipidică o constituie *interacţiunile hidrofobe*, definite prin tendinţa componentelor nepolare de a se asocia în mediu apos. Proteinele care participă la structura lipoproteidelor se disting printr-o proporţie relativ mare de aminoacizi nepolari care intervin în legarea lipidelor prin interacţiuni hidrofobe. Este însă posibilă şi participarea *forţelor van der Waals* la stabilirea legăturilor dintre cele două componente structurale — proteine şi lipide. Lipoproteidele prezintă o largă distribuţie, fiind componente structurale ale celulelor, mitocondriilor, membranelor celulare, reticulului endoplasmatic, nucleului, tecilor de mielină ale neuronilor etc. În plasma sanguină, lipoproteidele sînt asociate cu α- şi, în special, cu β-globulinele. În organismul animal, lipoproteidele îndeplinesc diferite *roluri* ca: sînt constituenţi celulari, intervin în permeabilitatea biomembranelor, participă la transportul unor substanţe liposolubile (lipide, vitamine, unii hormoni, carotine, medicamente etc.), furnizează energie, participă la transportul de lipide necesare dezvoltării embrionului de ou etc.

Scanned with OKEN Scanner

Conform cu denumirea lor, cromoproteidele sînt heteroproteide care conţin ca componentă prostetică o *substanţă colorată*. În funcţie de natura chimică a componentei prostetice care conferă culoare întregei molecule, cromoproteidele se clasifică în: cromoproteide porfirinice şi cromoproteide neporfirinice.

Unele cromoproteide (hemoglobina, mioglobina, citocromii etc.) sînt, totodată, şi metalproteide.

Cromoproteide porfirinice. Aceste cromoproteide includ ca componentă prostetică de bază un nucleu tetrapirolic substituit cu diferiţi radicali şi denumit *porfirină*. Există mai multe tipuri de porfirine, dintre care *protoporfirina* reprezintă componenta prostetică specifică diferitelor cromoproteide de origine animală. *Structura protoporfirinei* (fig. 4.34) este alcătuită din

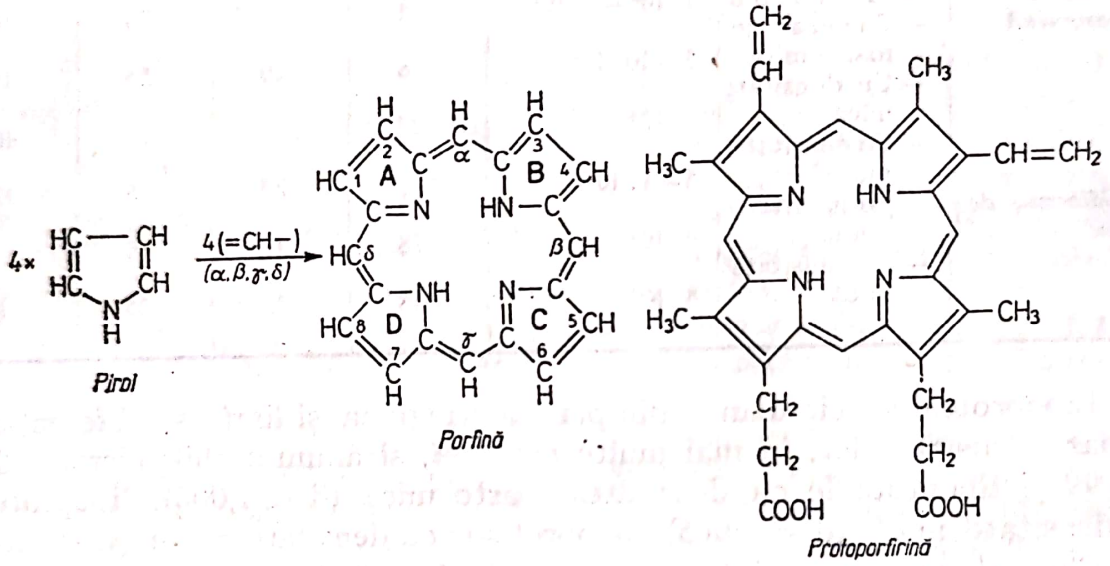


Fig. 4.34. Structura protoporfirinei.

patru nuclee pirolice unite între ele prin grupări metinice (=CH—); nucleul tetrapirolic astfel format constituie porfirina. Protoporfirina rezultă prin grefarea pe nucleul porfirinei a următorilor radicali saturaţi şi nesaturaţi: radicali $-CH_3$ în poziţiile 1, 3, 5 şi 8; radicali $-CH=CH_2$ (vinil) în poziţiile 2 şi 4; radicali $-CH_2-CH_2-COOH$ (de la acidul propionic) în poziţiile 6 şi 7.

Descrierea şi caracterizarea unor cromoproteide porfirinice de origine animală

a) *Hemoglobina** (Hb). Hemoglobinele sînt cromoproteide porfirinice componente ale hematiilor din sîngele vertebratelor cu rol în transportul oxigenului.

Structura hemoglobinei. Hemoglobina este constituită dintr-o componentă prostetică colorată de natură porfirinică denumită *hem* şi o componentă proteică denumită *globină*.

— *Hemul* este constituit din protoporfirină în centrul căreia se află un atom de Fe în stare bivalentă: Protoporfirină + Fe^{2+} → *Hem*.

* În realitate, există mai multe tipuri de hemoglobine care diferă, prin unele detalii structurale, în funcţie de specie.

Scanned with OKEN Scanner

Structura hemului prezintă următoarele *caracteristici*:

— conține 4 cicluri pirolice legate prin grupări metinice (=CH—);

— conține 11 duble legături conjugate;

— în pozițiile 1, 3, 5 și 8 sînt grefați radicali metil;

— în pozițiile 2, 4 sînt grefați radicali vinil;

— în pozițiile 6 și 7 sînt grefați radicali de la acidul propionic;

— atomul de Fe în stare bivalentă este legat central de atomii N ai ciclurilor pirolice prin două legături covalente și prin două legături covalente cordinative;

— în Hb, fierul stabilește încă două legături covalente coordinative cu componente proteică (globină) devenind astfel hexacoordinat;

— cele patru cicluri pirolice, ca și atomul de Fe, sînt coplanare;

— din cele șase legături pe care le stabilește atomul de Fe, patru sînt orientate în același plan, una este orientată deasupra planului și stabilește legătura cu globina, iar alta este orientată dedesubtul planului și poate stabili legătura cu o moleculă de apă, de oxigen sau de oxid de carbon.

Structura hemului este astfel redată în figura 4.35.

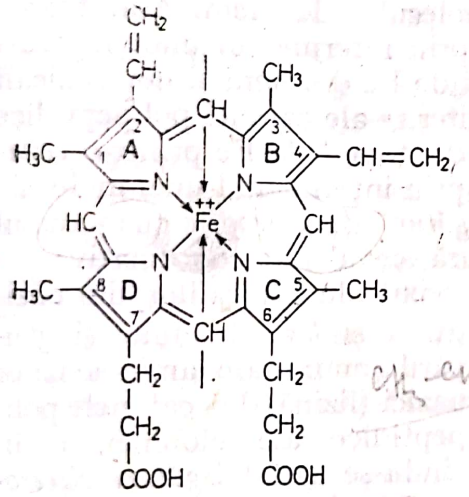


Fig. 4.35. Structura hemului.

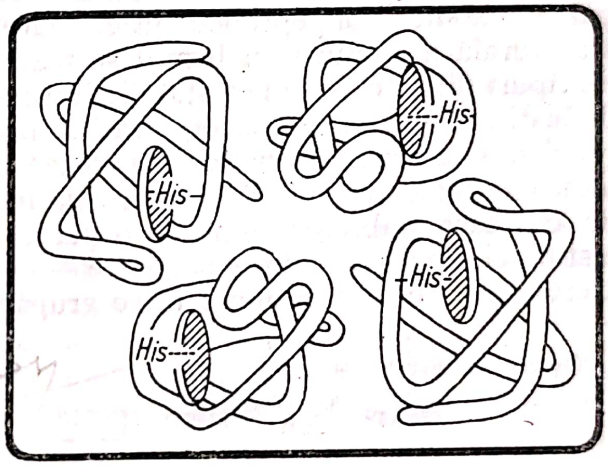


Fig. 4.36. Organizarea cuaternară a structurii globinei (porțiunea hașurată indică amplasamentul hemului în fiecare catenă polipeptidică).

— *Globina*. Componenta proteică a hemoglobinei este o proteină oligomeră constituită prin asocierea a patru catene polipeptidice (protomeri) asamblate într-o structură cuaternară. Globina este astfel un *tetramer* alcătuit din două perechi de catene polipeptidice (dimer), fiecare pereche fiind formată din catene identice (α, α și β, β):

2 catene α (dimer) + 2 catene β (dimer) → $\alpha_2\beta_2$ (tetramer).

Ca *proteină oligomeră* cu structură cuaternară, globina este alcătuită din două subunități, fiecare subunitate avînd compoziția: αβ. Stabilitatea ansamblului molecular este asigurată prin *legături electrostatice* (în care sînt implicate grupările terminale $-COO^-$ și $-NH_3^+$) între catenele polipeptidice α — α și α — β, precum și prin *legături de hidrogen* între cele două subunități oligomere (α — β). Date referitoare la modelul organizării structurale a hemoglobinei au fost prezentate la pagina 155. Structura de ansamblu a globinei se caracterizează printr-o proporție apreciabilă în α-helix (75 — 80%); segmentele α-helix rigide ale moleculei alternează cu porțiuni nespiralate fără o conformație organizată, porțiuni care conferă flexibilitate catenelor polipeptidice. Conformația celor patru catene polipeptidice ale globinei permite crearea în interiorul fiecăreia dintre acestea a unei „cavități" în care se găsește amplasată molecula hemului (fig. 4.36).

Hemoglobinele sînt de mai multe tipuri, care diferă între ele prin structura primară a fiecărei catene polipeptidice. Se cunosc astfel Hb umane în care globinele sînt constituite prin asocierea unor catene polipeptidice diferite (α, β, γ, δ) cu următoarea distribuție: $\alpha_2\ \beta_2$ = Hb A (Hb adultă); $\alpha_2\gamma_2$ = = Hb A_2 (în proporție mică, 3—4%); $\alpha_2\ \delta_2$ = Hb F (Hb fetală). Catenele α sînt comune tuturor tipurilor de Hb; structura lor primară s-a conservat intactă în decursul evoluției și reprezintă cele mai vechi catene polipeptidice — ancestrale — sub raport filogenetic. Modificări în secvența aminoacizilor au fost semnalate în cursul evoluției la nivelul catenei polipeptidice β; s-a constatat, de exemplu, că din totalul de 146 aminoacizi constituenți ai acestei catene s-au produs 26 de substituiri de aminoacizi la Hb de cal și 10 substituiri la Hb de porc, în raport cu secvența de aminoacizi a catenei β din Hb umană.

Sînt cunoscute, de asemenea, *hemoglobine patologice* în care înlocuirea chiar a unui singur aminoacid cu altul (de exemplu, valina cu acidul glutamic) modifică proprietățile funcționale ale Hb.

Structura hemoglobinei rezultă prin cuplarea globinei cu hemul. Molecula tetramer de globină conține patru molecule de hem, deoarece fiecare din cele patru catene polipeptidice leagă cîte o moleculă de hem. Asamblarea structurală a globinei cu hemul se realizează prin intermediul unor legături de tipuri diferite ce se pot stabili: între atomul de Fe din hem și doi radicali de histidină (cicluri imidazol) aflați în poziții diferite ale catenei polipeptidice (unul din radicalii de histidină se leagă direct de atomul de Fe printr-o *covalență coordinativă*, iar celălalt s-ar lega indirect prin intermediul unei molecule de apă care stabilește — pe de o parte — *o legătură de hidrogen* cu radicalul histidinei, iar — pe de altă parte — o legătură covalentă coordinativă cu atomul de Fe al hemului); între grupările carboxil ale radicalilor din pozițiile 6 și 7 ale hemului și grupările amină ale aminoacizilor bazici (lizină) din catenele polipeptidice ale globinei, realizîndu-se astfel *legături electrovalente*; între radicalii metil și vinil ai hemului și radicalii unor aminoacizi cu catene apolare (triptofan, fenilalanină) prin *forțe van der Walls*. Structura hemoglobinei este prezentată în figura 4.37.

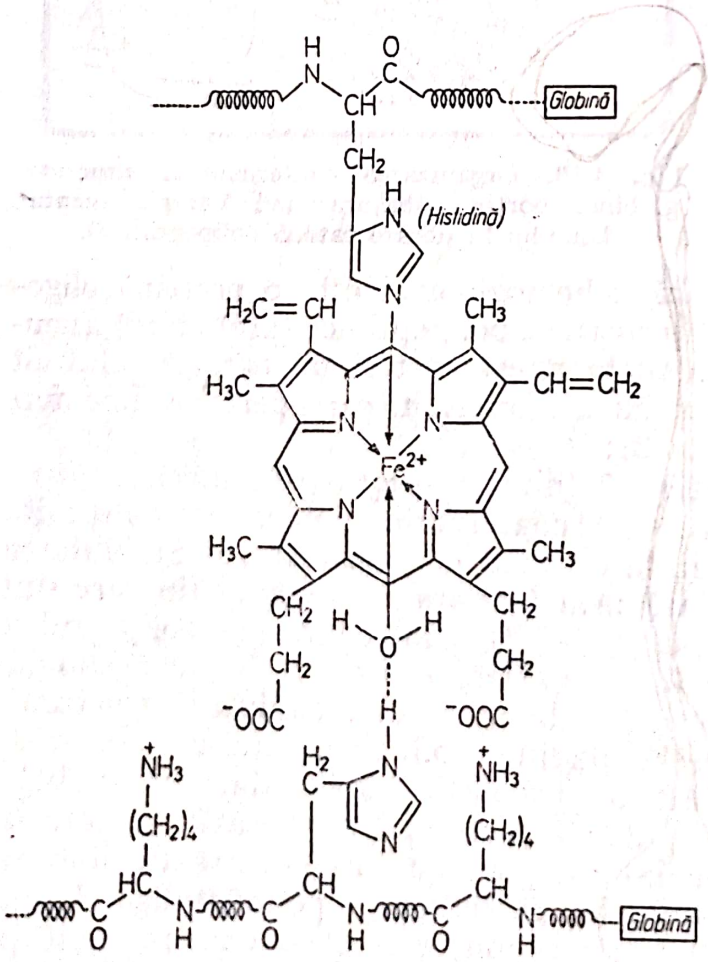


Fig. 4.37. Structura hemoglobinei.

Proprietăți generale ale hemoglobinei. Hb este un pigment de culoare roșie, component al hematiilor. Hb diferitelor vertebrate posedă mase moleculare cuprinse între 65 000 și 68 000, globina reprezentînd 96%; conținutul în Fe al Hb este de 0,33—0,34%. Hemoglobinele sînt substanțe cristalizabile; forma cristalelor este însă caracteristică fiecărei specii, ceea ce permite diferențierea și stabilirea prove-

Scanned with OKEN Scanner

nienței Hb. Componenta proteică — globina — conferă *specificitatea de specie* hemoglobinelor, diferind de la specie la specie; variațiile în secvența de aminoacizi a globinei determină existența și caracteristicile diferitelor tipuri de Hb. Hemul este însă *componenta invariabilă*, avînd aceeași structură pentru Hb tuturor speciilor.

Rolul hemoglobinei. Funcția esențială a Hb este aceea de a *transporta oxigenul molecular* de la plămîni la țesuturi. Acest transport se realizează pe baza capacității Hb de a forma cu O_2 un compus disociabil denumit *oxihemoglobină* (HbO_2):

$$Hb + O_2 \rightleftharpoons HbO_2$$

(țesuturi) (plămîni)

Sensul acestei reacții reversibile este sub dependența presiunii parțiale a O_2; la nivelul alveolelor pulmonare — unde presiunea O_2 este mai mare — se formează HbO_2, iar la nivelul vaselor capilare din țesuturi — unde presiunea O_2 este scăzută — HbO_2 disociază eliberînd O_2 necesar oxigenării țesuturilor și deci reacțiilor biochimice ce se petrec cu participarea oxigenului. Se definește ca *putere oxiforică a Hb* volumul de O_2 pe care Hb îl poate lega din 100 ml sînge.

Captarea reversibilă a O_2 de către Hb se realizează la nivelul atomului de Fe din hem și este potențată de globină. Legarea O_2 se face printr-o legătură covalentă coordinativă, fără modificarea stării de valență a Fe care rămîne *bivalent*. Fixarea reversibilă a O_2 la atomul de Fe s-ar realiza prin eliberarea uneia din legăturile pe care hemul le stabilește cu globina prin intermediul moleculei de apă, respectiv prin eliberarea unui radical de histidină, conform mecanismului indicat în figura 4.38. Capacitatea de legare a O_2 de către Hb se reprezintă printr-o *curbă de saturare* a Hb cu O_2. Aspectul acestei curbe în comparație cu cel al mioglobinei (Mb), este redat în figura 4. 39. Din curba prezentată rezultă că procesul de saturare a Hb cu O_2 are

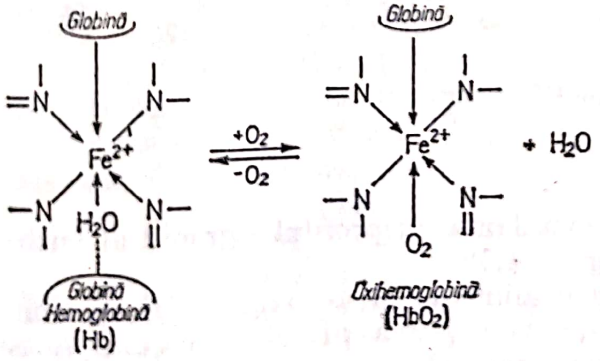


Fig. 4.38. Mecanismul formării oxihemoglobinei.

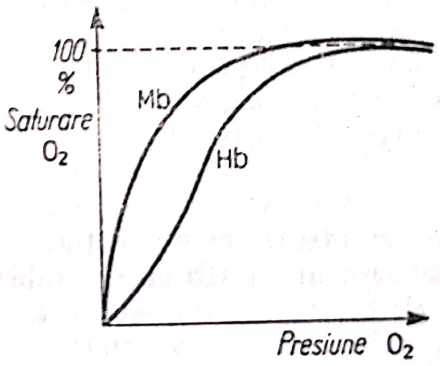
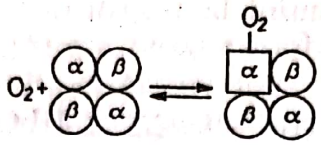


Fig. 4.39. Curba de saturare a hemoglobinei și mioglobinei cu oxigen

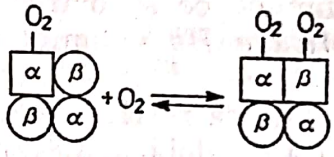
un aspect sigmoid, pe cînd procesul de saturare a Mb cu O_2 are aspectul unei hiperbole. Explicația acestei comportări constă în faptul că globina din Hb este o *proteină oligomeră* constituită din patru catene polipeptidice și patru nuclee hem, fiecare din acestea putînd să lege cîte o moleculă de O_2; Mb este constituită însă dintr-o singură catenă polipeptidică ce conține un singur nucleu de hem și, în consecință, poate să lege numai o moleculă de O_2. Curba sigmoidă de saturare a Hb cu O_2 denotă faptul că legarea primei molecule de O_2 la un nucleu de hem mărește capacitatea de legare succesivă a moleculelor de O_2 la celelalte trei nuclee de hem.

Scanned with OKEN Scanner

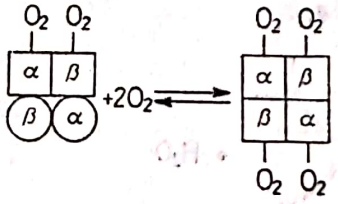
Mecanismul acestui proces se interpretează astfel: Hb disociază reversibil în două subunități funcționale ($\alpha\beta$): $\alpha_2\beta_2 \rightleftharpoons 2\alpha\beta$. Se consideră că o moleculă de O_2 se combină, de fapt, cu unul din cele două hemuri ale unei subunități ($\alpha\beta$), de exemplu, cu hemul aparținînd catenei polipeptidice α. Prin această combinare, catena α suferă o modificare conformațională de la o formă indicată printr-un cerc la o formă indicată printr-un pătrat:



Modificarea conformațională produsă la nivelul catenei α este transmisă fizic la catena polipeptidică β, în care se induce astfel o modificare conformațională analoagă celei produse la nivelul catenei α; modificarea conformației catenei β crește afinitatea acesteia pentru O_2, hemul catenei β fixînd o a doua moleculă de O_2:



Oxigenarea completă a subunității $\alpha\beta$, asociată cu modificările conformaționale respective, determină un „stress" care induce schimbări de conformație — în maniera menționată — și la nivelul celei de a doua subunități $\alpha\beta$ a Hb; astfel, modificarea conformației de la (α)(β) la [α][β] mărește afinitatea pentru O_2 și a celei de a doua subunități $\alpha\beta$. În acest fel, încă două molecule de O_2 se fixează la a doua subunitate $\alpha\beta$ pentru a se obține Hb complet oxigenată (HbO_2):



Acest mecanism secvențial este în concordanță cu profilul sigmoid al curbei de saturare a Hb cu O_2 indicat în figura 4.39.

Pe lîngă rolul său de transportor și alimentator de oxigen, Hb exercită și rolul unui *sistem tampon*, participînd la reglarea *p*H-ului sanguin. Acest sistem tampon este constituit din: oxihemoglobinat alcalin/oxihemoglobină acidă ($KHbO_2/HHbO_2$).

Derivați ai hemoglobinei. Carboxihemoglobina (HbCO) rezultă prin legarea coordinativă a CO de către Hb, aceasta avînd o afinitate mult mai mare pentru CO decît pentru O_2; HbCO este un *compus toxic* și puțin disociabil care blochează funcția respiratorie a Hb, producînd intoxicații și respectiv asfixie (în cazul în care peste 50% din Hb este blocată ca HbCO).

Carbhemoglobina rezultă prin fixarea CO_2 la o grupare amină liberă a globinei, cu formarea unui compus disociabil de tip carbaminoderivat:

$$\underset{\text{(hemoglobină)}}{R{-}NH_2} + CO_2 \rightleftharpoons \underset{\text{(carbhemoglobină)}}{R{-}NH{-}COO^-} + H^+$$

Pe această reacție reversibilă se bazează proprietatea Hb de a transporta CO_2 de la țesuturi — unde presiunea parțială a acestuia este mare — la plămîni unde CO_2 este expirat.

În anumite condiții, Fe din Hb se oxidează devenind fier trivalent; derivații hemului care conțin Fe trivalent poartă denumirea generică de *hemine*. Hemul cu Fe în stare trivalentă nu mai posedă capacitatea de a lega O_2. Astfel, *Methemglobina* (HbM) rezultă prin oxidarea Hb; fierul trece în stare trivalentă prin legarea unei grupări OH^- și pierde astfel capacitatea de a mai lega O_2 (fig. 4.40). Eritrocitele sintetizează HbM în cantități mici, însă existența unor enzime (methemoglobinreductaze) deplasează permanent echilibrul $Hb \rightleftharpoons HbM$ spre sînge, astfel încît HbM să nu depășească în sînge valoarea critică de 0,4% din conținutul total al Hb. În cantități mai mari, HbM poate apărea în sînge datorită unor cauze diverse: intoxicații cu compuși chimici oxidanți, pesticide, unele medicamente, defecte genetice care afectează secvența de aminoacizi din catenele α și β ale globinei etc. *Clorhemina* posedă, de asemenea, Fe în stare trivalentă prin legarea anionului Cl^- (v. fig. 4.40). Reacția de transformare a hemului în clorhemină se petrece în prezența $CH_3—COOH$ și a NaCl (sau HCl) și este însoțită de formarea unor cristale caracteristice denumite *cristale Teichman;* această reacție este foarte sensibilă, fiind utilizată pentru identificarea urmelor de sînge.

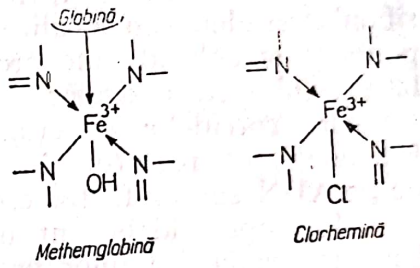


Fig. 4.40. Structura simplificată a methemoglobinei și clorheminei.

b) *Mioglobina* (Mb). Reprezintă cromoproteida de culoare roșie existentă în mușchi. Ca structură și funcție Mb prezintă similitudini cu Hb de care se deosebește însă prin faptul că componenta proteică este constituită numai dintr-o *singură catenă polipeptidică;* rezultă astfel că Mb conține o singură grupare hem pe moleculă, hemul fiind identic cu cel al Hb. Catena polipeptidică a Mb conține 153 de aminoacizi și are o masă moleculară în jur de 17 000 (Structura Mb a fost prezentată în figura 4.18.). Rolul Mb este asociat cu transportul O_2 în țesutul muscular, constituind — totodată — *o formă de rezervă a* O_2 necesară oxidărilor celulare. Afinitatea Mb pentru O_2 este de aproape 6 ori mai mare decît cea a Hb: $MbO_2 \rightleftharpoons Mb + O_2$.

c) *Citocromii.* Sînt cromoproteide a căror componentă prostetică este similară cu hemul din Hb. Citocromii participă la reacțiile biochimice de oxideroducere prin *transfer de electroni.* Funcția citocromilor se bazează pe proprietatea Fe inclus în structura analoagă hemului de a se oxida și reduce reversibil, conform reacției:

$$Fe^{2+} \underset{+e^-}{\overset{-e^-}{\rightleftharpoons}} Fe^{3+}.$$

d) *Hemenzimele.* Pe lîngă citocromi, o serie de enzime din clasa oxidoreductaze (catalaze, peroxidaze, citocromoxidaza) conțin în structura lor ca componentă prostetică *hemul,* identic sau asemănător celui din structura hemoglobinelor.

Cromoproteide neporfirinice. Componenta prostetică a acestor cromoproteide este de altă natură chimică decît cea porfirinică. În această categorie se încadrează diverse cromoproteide a căror denumire evocă pe cea a componentei prostetice constituente: *flavin*enzime, *carotino*proteide.

Componenta prostetică a acestor heteroproteide o constituie *acizii nucleici*. Aceştia sînt asociaţi prin legături electrovalente sau de altă natură cu o componentă proteică, în general, de tipul histonelor şi protaminelor; nucleoproteidele sînt astfel *nucleohistone* sau *nucleoprotamine*. Dintre toate tipurile de heteroproteide, nucleoproteidele prezintă cea mai mare masă moleculară datorită caracterului macromolecular al componentei prostetice — acizii nucleici.

Nucleoproteidele se clasifică în *ribonucleoproteide* şi *deoxiribonucleoproteide*, clasificare ce reflectă natura chimică a componentei prostetice constituente, şi anume: acidul ribonucleic (ARN) şi acidul deoxiribonucleic (ADN). Ribonucleoproteidele sînt localizate în citoplasma celulară, cu precădere la nivelul ribozomilor şi, într-o anumită proporţie, în nucleul celular; deoxiribonucleotidele sînt localizate în nucleul tuturor celulelor şi reprezintă componente structurale ale cromozomilor; existenţa lor a fost semnalată şi la nivelul mitocondriilor. După toate probabilităţile, componenta proteică a nucleoproteidelor ar acţiona ca forţă secundară de stabilizare a conformaţiei ADN, ca reglator în procesul de transcriere a mesajului ereditar de pe ADN sau ca factor esenţial în manifestarea activităţii ribozomilor.

Nucleoproteidele sînt ubicvitar răspîndite în materia vie şi constituie baza moleculară a unor procese biologice fundamentale ca stocarea, transmiterea şi exprimarea informaţiei ereditare, biosinteza protidelor, diviziunea celulară.

4.6. ACIZI NUCLEICI

4.6.1. CARACTERIZARE GENERALĂ

Acizii nucleici sînt biomacromolecule de importanţă biologică fundamentală, care deţin un loc aparte în logica organizării şi funcţionării materiei vii. Acizii nucleici prezintă următoarele *caracteristici generale*:

— sînt componente chimice *ubicvitare* şi definitorii ale materiei vii;
— acizii nucleici şi proteinele constituie *pivotul* întregii biologii, care polarizează şi determină ansamblul activităţilor biochimice şi funcţionale caracteristice manifestărilor vitale;
— acizii nucleici deţin o dublă funcţie biologică esenţială, deoarece constituie: a) suportul molecular pentru *păstrarea şi transmiterea informaţiei genetice* şi b) mecanismul prin care controlează şi direcţionează *biosinteza proteinelor* (enzimelor) caracteristice unei celule;
— în strictă corelaţie cu această funcţie biologică, acizii nucleici reprezintă baza moleculară responsabilă pentru: a) *diferenţierea şi reglarea* celulară, b) *constanţa replicării celulare*, c) modificările *naturale sau induse* în constituţia genetică a unui organism, d) *reglarea schimburilor metabolice* ale unei celule datorate unor necesităţi fiziologice sau unei variaţii a mediului ambiant, e) *menţinerea şi perpetuarea* unui organism viabil;
— în acidul deoxiribonucleic (ADN) se află înscris *programul genetic* al dezvoltării oricărui organism;
— acizii nucleici sînt *biomacromolecule* constituite dintr-un număr enorm de unităţi structurale de bază denumite nucleotide; aşadar, acizii nucleici sînt *polinucleotide*;
— acizii nucleici (ca şi proteinele) sînt *biomacromolecule informaţionale*, acest caracter fiindu-le conferit de varietatea nucleotidelor care intră în structura lor;

Scanned with OKEN Scanner

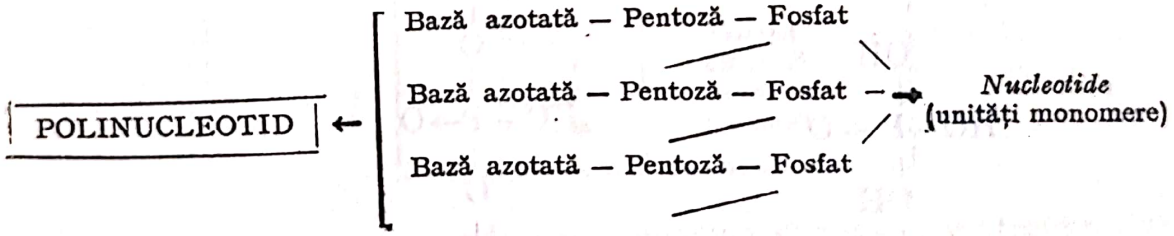
— acizii nucleici posedă *mase moleculare* ce acoperă un spectru foarte larg, cuprins între 10^4 pînă la 10^9 sau chiar 10^{12};
— acizii nucleici, în speță, acidul deoxiribonucleic, constituie *baza biochimică, moleculară a evoluției*, deoarece mutațiile — ca motor al evoluției — reprezintă alterări precis localizate în secvența nucleotidelor incluse în structura ADN.

4.6.2. CLASIFICARE ȘI COMPOZIȚIE CHIMICĂ GENERALĂ

Orice organism viu conține două tipuri de acizi nucleici denumiți: *acizi ribonucleici* (ARN) și *acizi deoxiribonucleici* (ADN). Virusurile constituie o excepție, deoarece nu conțin decît un singur tip de acid nucleic: fie ARN, fie ADN.

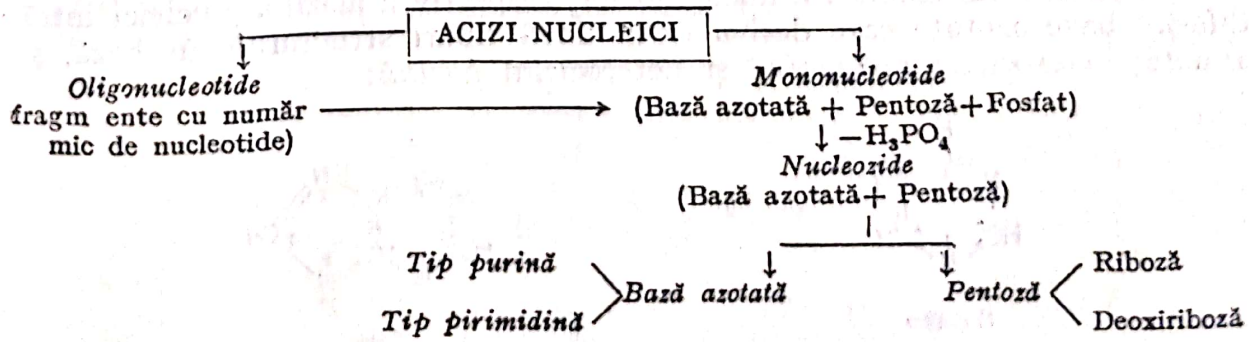
În conformitate cu denumirea lor, clasificarea acizilor nucleici se bazează pe natura componentei glucidice pe care o conțin în moleculă, și anume: acidul *ribo*nucleic conține ca pentoză *riboza*, iar acidul *deoxi*ribonucleic conține ca pentoză 2-*deoxiriboza*. Atît ARN cît și ADN sînt substanțe *polimere* constituite din unirea prin legături covalente a unui număr mare de unități monomere denumite *nucleotide*. În consecință, acizii nucleici sînt *polinucleotide*.

Nucleotidul — ca unitate chimică structurală de bază a acizilor nucleici — este constituit, la rîndul său, din următoarele trei componente chimice: *bază azotată, pentoză, fosfat anorganic* (orto). Toate aceste componente structurale ale nucleotidului sînt legate covalent în ordinea: *bază azotată — pentoză — fosfat*. În acizii nucleici, nucleotidele componente sînt asamblate succesiv prin intermediul unor legături *fosfodiester* stabilite între pentozele nucleotidelor adiacente. Bazele azotate nu sînt implicate în alte legături covalente decît cele pe care le stabilesc cu pentoza. Pe baza acestor considerente, schema generală a unui polinucleotid poate fi formulată astfel:



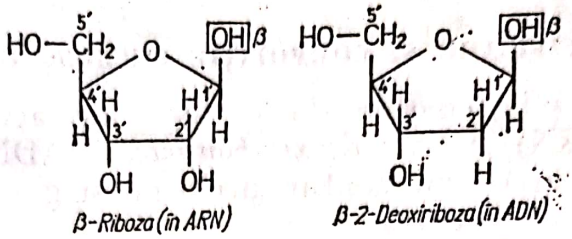
4.6.3. COMPONENTE STRUCTURALE. CONSTITUȚIE CHIMICĂ ȘI PROPRIETĂȚI MOLECULARE

O schemă generală a componentelor structurale ale acizilor nucleici poate fi redată astfel:



4.6.3.1. PENTOZE

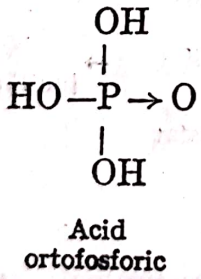
Pentoza care intră în structura acizilor nucleici, respectiv a nucleotidelor constituente este reprezentată prin *riboză* în ARN și *2-deoxiriboză* în ADN. Ambele pentoze se prezintă în forma anomeră β.

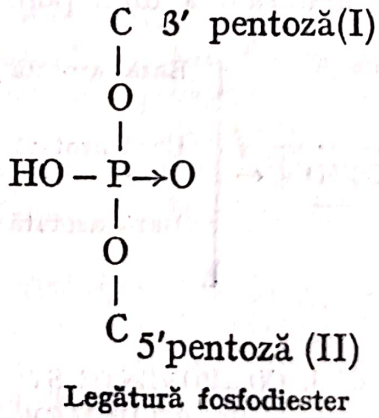


Prin hidroxilul semiacetalic riboza și deoxiriboza stabilesc legături β-glicozidice cu bazele azotate.

4.6.3.2. ACIDUL FOSFORIC (fosfat)

În acizii nucleici, acidul fosforic se găsește sub forma orto (H_3PO_4) și le conferă acestora caracterul acid. În structura fiecărui nucleotid, acidul ortofosforic este fixat la componenta glucidică a acestuia. Acidul ortofosforic stabilește legătura între diferitele nucleotide care constituie macromolecula de acizi nucleici, prin formarea unor legături *fosfodiester* între gruparea —OH din poziția 3′ a ribozei sau deoxiribozei aparținînd unui nucleotid și gruparea —OH din poziția 5′ a ribozei sau deoxiribozei aparținînd altui nucleotid:

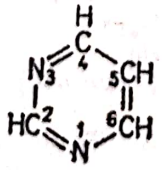

Acid ortofosforic

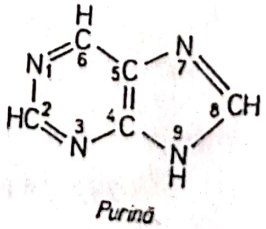


Legătură fosfodiester

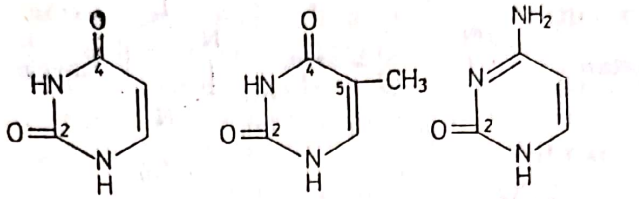
4.6.3.3. BAZE AZOTATE

În constituția chimică a nucleotidelor, respectiv a acizilor nucleici intră diferite baze azotate care derivă de la două tipuri structurale de bază, și anume: heterociclul *pirimidină* și heterociclul *purină*:


Pirimidină

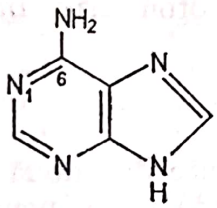

Purină

Bazele pirimidinice principale prezente în mod frecvent în structura acizilor nucleici sînt: *Uracil* (*U*), *Timină* (*T*) și *Citozină* (*C*).

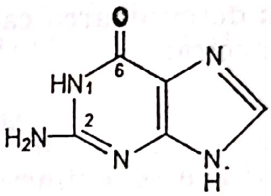


Uracil (2,4-dioxipirimidină) — *Timină* (5-metil-2,4-dioxipirimidină) — *Citozină* (2-oxi-4-aminopirimidină)

Bazele purinice principale distribuite în mod frecvent în structura acizilor nucleici sînt: *Adenina* (*A*) și *Guanina* (*G*):



Adenină (6-aminopurină)



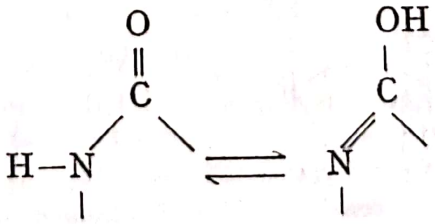
Guanină (2-amino-6-oxipurină)

În acizii nucleici, bazele azotate pirimidinice și purinice se prezintă în următoarea *distribuție*:

Baze azotate	
ARN	ADN
Uracil	***Timină***
Citozină	Citozină
Adenină	Adenină
Guanină	Guanină

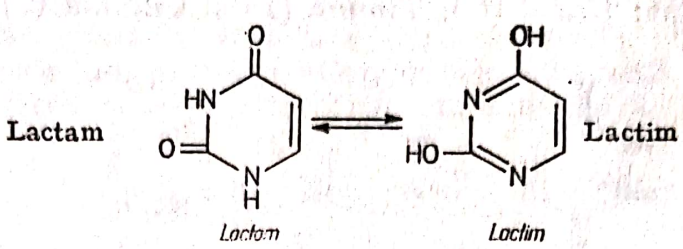
Rezultă că citozina, adenina și guanina sînt comune structurii ambelor tipuri de acizi nucleici, pe cînd uracilul se găsește numai în ARN, iar timina numai în ADN.

Proprietăți generale ale bazelor azotate. Bazele azotate pirimidinice și purinice (cu excepția adeninei) prezintă fenomenul de *tautomerie*, pe baza căruia între forma ceto (lactam) a acestor baze și forma enol (lactim) se stabilește un echilibru care este dependent de *p*H-ul mediului; la *p*H fiziologic, predomină *forma lactam*. Reprezentarea generală a tautomeriei lactam-lactim poate fi redată în următoarea formulare:



Lactam (forma ceto) — *Lactim* (forma enol)

De exemplu, formele tautomere ale uracilului se reprezintă astfel:



Deoarece forma lactam este predominantă, bazele azotate stabilesc legături covalente de tip *N*-glicozidic între atomul N din poziția 1 a ciclului pirimidinic sau atomul N din poziția 9 a ciclului purinic și hidroxilul semiacetalic (C_1) al ribozei și respectiv al deoxiribozei.

Bazele pirimidinice și purinice prezintă un maximum de absorbție caracteristic în lumina ultravioletă ($\lambda = 260$ nm). Această proprietate este utilizată pentru determinarea cantitativă prin spectrofotometrie în ultraviolet a acizilor nucleici.

4.6.3.4. NUCLEOZIDE

Nucleozidele se definesc ca substanțe constituite din două unități chimice — o bază azotată (pirimidinică sau purinică) și o pentoză (riboză sau deoxiriboză): *Nucleozid* = bază azotată + pentoză.

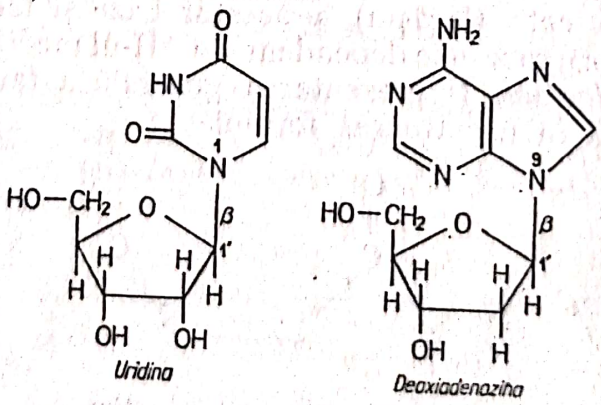
În completarea definiției, nucleozidele sînt considerate *N-glicozide* ale bazelor pirimidinice sau purinice în care se stabilește o legătură β-glicozidică între hidroxilul semiacetalic grefat la C_1^* al pentozei și atomul N_1 al bazei pirimidinice sau atomul N_9 al bazei purinice: $C_{1'}(\beta) \rightarrow N_1$; $C_{1'}(\beta) \rightarrow N_9$.

Tabelul 4—11

Exemple de nucleozide

Baza azotată	Ribonucleozide	2'-Deoxiribonucleozide
Uracil	Uridina	—
Timina	—	Deoxitimidina
Citozina	Citidina	Deoxicitidina
Adenina	Adenozina	Deoxiadenozina
Guanina	Guanozina	Deoxiguanozina

Nucleozidele pot fi considerate ca produși de hidroliză parțială a nucleotidelor și se clasifică în două categorii: *ribonucleozide* care conțin β-D-riboza și *2'-deoxiribonucleozide* care conțin 2'-deoxi-β-D-riboza. Reprezentanții principali ai fiecărei categorii sînt indicați în tabelul 4—11. Ca exemple de formule de structură a unor nucleozide se menționează uridina și deoxiadenozina:



* Pentru evitarea confuziilor de nomenclatură, atomii de carbon ai ribozei și deoxiribozei se notează cu numere prime (').

Nucleotidele sînt unitățile monomere structurale ale polinucleotidelor, respectiv ale macromoleculelor de acizi nucleici. Nucleotidele rezultă din hidroliza parțială a acizilor nucleici sub acțiunea enzimelor denumite generic nucleaze; dar, ele se găsesc și în stare liberă în toate celulele, îndeplinind — și sub această formă — roluri biochimice importante prin participarea lor la diferite reacții. Nucleotidele pot fi definite și ca *esteri fosforici ai nucleozidelor*, în care acidul fosforic poate fi esterificat cu una din grupările — OH ale pentozei. Deci, *structura nucleotidelor* este constituită din trei componente chimice:

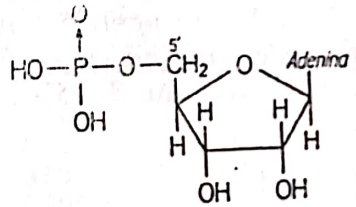
$$\boxed{\textit{Nucleotid} = \text{bază azotată} + \text{pentoză} + \text{acid fosforic}}.$$

Aceste componente sînt unite între ele prin două tipuri de legături: legătură *N*-β-*glicozidică* și legătură *ester*.

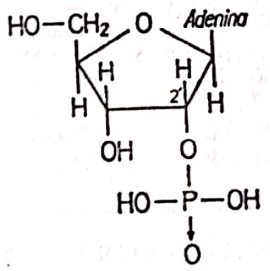
În funcție de natura pentozei constituente, nucleotidele se clasifică în două categorii: *ribonucleotide* care conțin β-*D*-riboza și *deoxiribonucleotide* care conțin 2-deoxi-β-*D*-riboza.

În ribonucleotide, acidul fosforic poate fi esterificat la grupările —OH ale ribozei din pozițiile 2′, 3′ și 5′, iar în deoxiribonucleotide la grupările —OH din pozițiile 3′ și 5′ ale deoxiribozei.

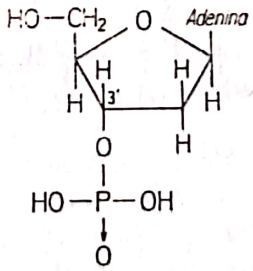
Structura chimică de bază a nucleotidelor, cu evidențierea diferitelor poziții pe care le poate deține radicalul acidului fosforic, este redată prin cîteva exemple din familia adenozinei:



Adenozin-5′-monofosfat (5′-AMP) (sau acid 5′-adenilic)



Adenozin-2′-monofosfat (2′-AMP) (sau acid 2′-adenilic)



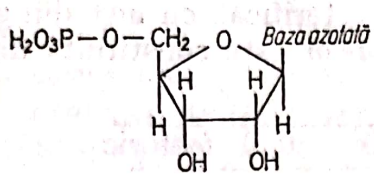
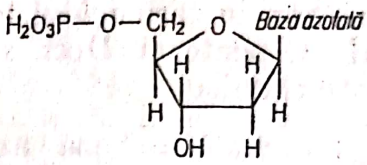
Deoxiadenozin-3′-monofosfat (3′-dAMP) (sau acid 3′-deoxiadenilic)

Nucleotidele predominante în celulă *sub formă liberă* sînt cele care posedă radicalul acidului fosforic în poziția 5′, adică nucleozid-5′-fosfații; aceste nucleotide îndeplinesc roluri importante în metabolismul celular. Structura generală și nomenclatura principalelor *ribonucleotide* (ribonucleozide-5′-monofosfat) și *deoxiribonucleotide* (deoxiribonucleozide-5′-monofosfat) sînt consemnate în tabelul 4—12.

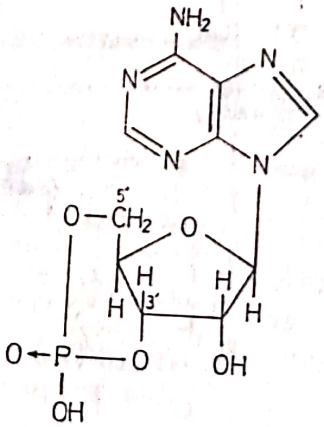
Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 4—12

Principalele ribonucleotide şi deoxiribonucleotide

Ribonucleotide	Deoxiribonucleotide
Structura generală: 	*Structura generală:* 
Reprezentanţi: Uridin-5′-monofosfat; UMP (Acid uridilic) Citidin-5′-monofosfat; CMP (Acid citidilic) Adenozin-5′-monofosfat; AMP (Acid adenilic) Guanozin-5′-monofosfat; GMP (Acid guanilic)	*Reprezentanţi:* Deoxitimidin-5′-monofosfat; dTMP (Acid deoxitimidilic) Deoxicitidin-5′-monofosfat; dCMP (Acid deoxicitidilic) Deoxiadenozin-5′-monofosfat; dAMP (Acid deoxiadenilic) Deoxiguanozin-5′-monofosfat; dGMP (Acid deoxiguanilic)

Nucleotidul 3′,5′-AMP ciclic. O structură particulară se remarcă în cazul monofosfat nucleotidelor ciclice, în care acidul fosforic se esterifică cu ambele grupări —OH din poziţiile 3′ şi 5′ ale aceleiaşi molecule de pentoză, formîndu-se astfel o legătură *fosfodiester internă* (3′ → 5′). Un asemenea nucleotid este *adenozin-3′,5′-monofosfatul ciclic* sau *3′, 5′-AMP ciclic:*



3′,5′-AMP ciclic este dotat cu proprietăţi de reglare, funcţionînd în diverse procese biochimice ca un *reglator* al activităţilor metabolice şi fiziologice. În special la mamifere, acţiunea 3′,5′-AMP ciclic este corelată organic cu activitatea multor hormoni. Efectul primar, imediat al diferiţilor hormoni este de a activa enzima responsabilă pentru producerea în celulă a 3′,5′-AMP ciclic. Acesta, la rîndul său, controlează activitatea unor enzime, de regulă prin interacţiune allosterică. Deci, 3′,5′-AMP ciclic funcţionează ca un al doilea reglator ce poartă mesajul primului reglator care este un hormon; de aceea, 3′,5′-AMP ciclic este considerat ca un al doilea mesager al controlului hormonal.

Scanned with OKEN Scanner

Nucleotide 5′-difosfat și 5′-trifosfat. Nucleotidele pot conține în molecula lor unul sau mai mulți radicali ai acidului ortofosforic, numărul acestor radicali constituind un criteriu de subclasificare a nucleotidelor în: *monofosfat nucleotide* (XMP)*, *difosfat nucleotide* (XDP), *trifosfat nucleotide* (XTP). Un exemplu tipic în acest sens îl constituie existența în celule a AMP (adenozin-5′-monofosfat), ADP (adenozin-5′-difosfat) și ATP (adenozin-5′-trifosfat) ale căror structuri sînt prezentate în figura 4.41.

Semnificația biochimică a acestor nucleotide — ATP, ADP, AMP — este extrem de importantă deoarece ele participă în procesele de *conservare și utilizare a energiei* eliberată în cadrul metabolismului celular; totodată, rolul biochimic al acestor nucleotide constă și în capacitatea lor de a acționa ca substanțe donatoare sau *acceptoare de grupări fosfat* în diferite reacții metabolice.

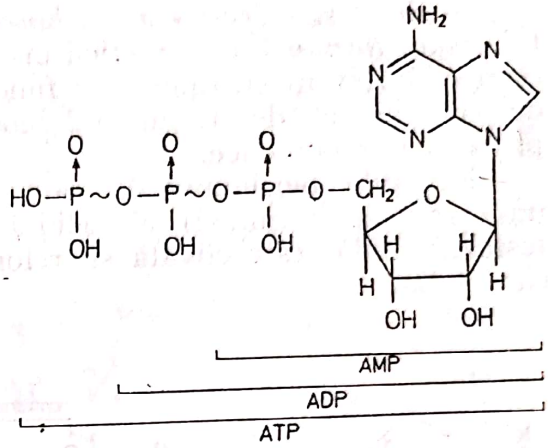


Fig. 4.41. Structura AMP, ADP și ATP.

Fiecare din ribonucleotidele și deoxiribonucleotidele menționate în tabelul anterior (XMP) pot exista și ca 5′-difosfat (XDP) sau ca 5′-trifosfat (XTP):

Ribonucleotide mono-, di- și trifosforilate			Deoxiribonucleotide mono-, di- și trifosforilate		
UMP	UDP	UTP	dTMP	dTDP	dTTP
CMP	CDP	CTP	dCMP	dCDP	dCTP
AMP	ADP	ATP	dAMP	dADP	dATP
GMP	GDP	GTP	dGMP	dGDP	dGTP

Proprietăți generale și rolul biochimic al nucleotidelor

— Ribonucleotidele și deoxiribonucleotidele au un caracter acid datorită disocierii protonilor din radicalul acidului fosforic; la $pH = 7{,}0$ nucleotidele libere pot exista în stare disociată $R - O - PO_3^{2-}$, R indicînd nucleotidul respectiv.

— Prezența bazelor pirimidinice și purinice în structura nucleotidelor le conferă acestora proprietatea de a absorbi în lumină ultravioletă, cu un maxim de absorbție la $\lambda = 260$ nm.

— Nucleotidele pot fi hidrolizate în prezența enzimei 5′-nucleotidaza, cu eliberarea acidului fosforic dar fără scindarea legăturii N-glicozidice;

— Anumite difosfat nucleotide acționează ca coenzime, activînd unele oze ce participă în reacții de biosinteză ale diglucidelor și poliglucidelor; astfel, uridin-5′-difosfat (UDP) leagă o moleculă de glucoză (G), compusul format (UDPG) servind ca un donator de glucoză.

— Derivați ai adenozin-5-difosfatului participă la reacții de oxidoreducere; astfel, adenozin-5′-difosfatul cuplat cu nicotinamida asociată cu riboza formează o coenzimă extrem de importantă în reacțiile de oxidoreducere denumită *N*icotinamid *A*denin *D*inucleotid (NAD$^+$).

* X reprezintă diferite nucleozide.

Scanned with OKEN Scanner

— Trifosfat nucleotidele sînt precursori pentru biosinteza acizilor nucleici și participă în numeroase reacții enzimatice de metabolizare a diferitelor tipuri de compuși chimici; de exemplu, CTP participă la biosinteza fosfolipidelor, UTP la biosinteza și interconversiunea diferitelor glucide, ATP la eliberarea energiei necesară proceselor metabolice etc.

— *Rolul și importanța biochimică a ATP.* Adenozin trifosfatul constituie *placa turnantă* a energeticii materiei vii. ATP-ul este un *compus macroenergic* (bogat în energie) care funcționează ca un acumulator și generator de energie; el deține un rol biochimic decisiv în ansamblul reacțiilor și proceselor metabolice.

Reacțiile biochimice la care participă ATP se bazează pe hidroliza unui radical (terminal) al acidului fosforic, prin care o legătură de tip fosfoanhidridă este clivată și reformată în cadrul unui proces reversibil (fig. 4.42).

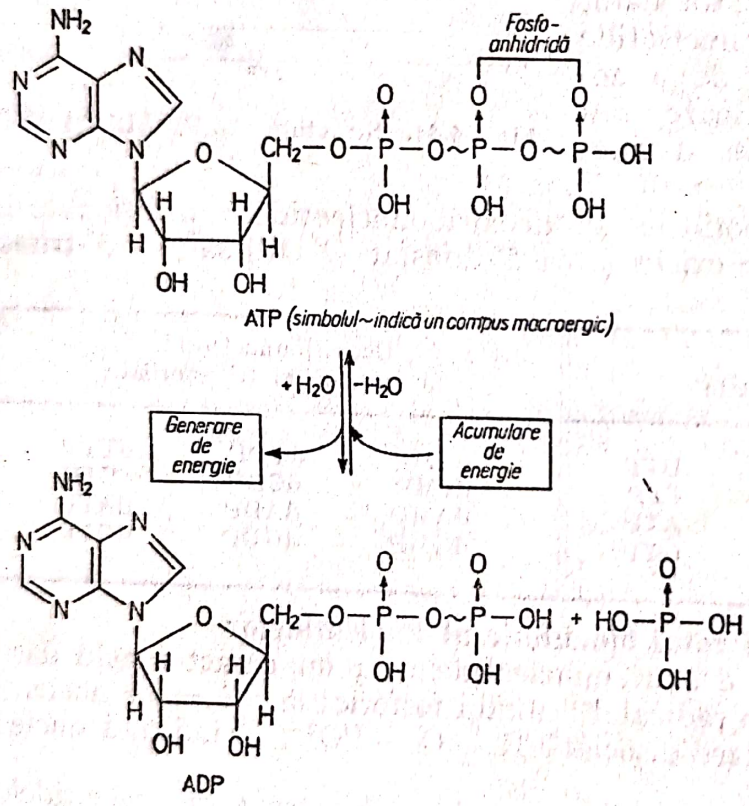


Fig. 4.42. Participarea ATP în reacții de generare și acumulare de energie.

Prin hidroliza ATP se eliberează o cantitate importantă de energie (8 000 — 10 000 cal/mol) necesară desfășurării unor procese metabolice. ADP, spre deosebire de ATP, deține un conținut mai mic de energie. Reformarea ATP din ADP și fosfat anorganic (Pi) necesită aport de energie.

Reacția ATP ⇌ ADP + Pi reprezintă cheia de boltă a bioenergeticii și reflectă dinamica fluxului de energie în cadrul celulei; prin această reacție se asigură transferul energiei chimice utilizată în metabolismul celular al tuturor organismelor. Energetica sistemului ATP ⇌ ADP + Pi implică două aspecte fundamentale, și anume: formarea ATP din ADP și Pi reprezintă *conservarea* energiei chimice rezultată din metabolizarea alimentelor, iar transformarea ATP în ADP reprezintă *eliberarea* și utilizarea energiei chimice stocată în molecula ATP. Date suplimentare referitoare la biochimia și rolul ATP sînt prezentate în capitolul 9 Bioenergetica.

Scanned with OKEN Scanner

4.6.4. POLINUCLEOTIDE. ACIZI NUCLEICI

4.6.4.1. CARACTERIZARE GENERALĂ

Polinucleotidele sînt substanțe *macromoleculare* rezultate din condensarea unui număr mare de mononucleotide care constituie unitățile structurale monomere ale polinucleotidelor. Acizii nucleici sînt polinucleotide, și anume: ADN este un *polideoxiribonucleotid*, iar ARN un *poliribonucleotid*.

Structura polinucleotidelor rezultă prin stabilirea între mononucleotidele adiacente a unor *legături covalente 3′ → 5′ fosfodiester*; aceste legături se realizează între o grupare — OH din poziția 3′ a deoxiribozei (în ADN) sau ribozei (în ARN) aparținînd unui mononucleotid și gruparea — OH din poziția 5′ a deoxiribozei sau ribozei aparținînd mononucleotidului învecinat. În acest fel, se formează lanțuri lungi (macromolecule) de polinucleotide. Structura chimică a polideoxiribonucleotidelor (ADN) și a poliribonucleotidelor (ARN) este prezentată în figura 4.43 sub forma unor fragmente din macromoleculele respective, cu evidențierea legăturilor 3′ → 5′ fosfodiester. Structura polinucleotidelor poate fi redată și prin reprezentarea simbolică din figura 4.44. În această reprezentare, linia verticală indică deoxiriboza sau riboza pe care sînt marcate pozițiile 3′ și 5′ ale grupărilor —OH care participă — prin intermediul radicalului acidului fosforic (P) — la stabilirea legăturilor 3′ → 5′ fosfodiester dintre nucleotide; bazele azotate ale fiecărui mononucleotid sînt codificate prin literele A, C, G, T (U) situate în poziția $C_{1'}$ a pentozei respective.

Structura secvențială a polinucleotidelor se mai poate reprezenta simplificat și sub forma:

.... 5′ pN pN pN pN 3′ ...
sau
.... pA pG pC pA pG ....

Poliribonucleotid

...5′ pdN pdN pdN pdN 3′..
sau
... pdA pdT pdG pdC....

Polideoxiribonucleotid

Semnificația notațiilor este următoarea: N = ribonucleotid;

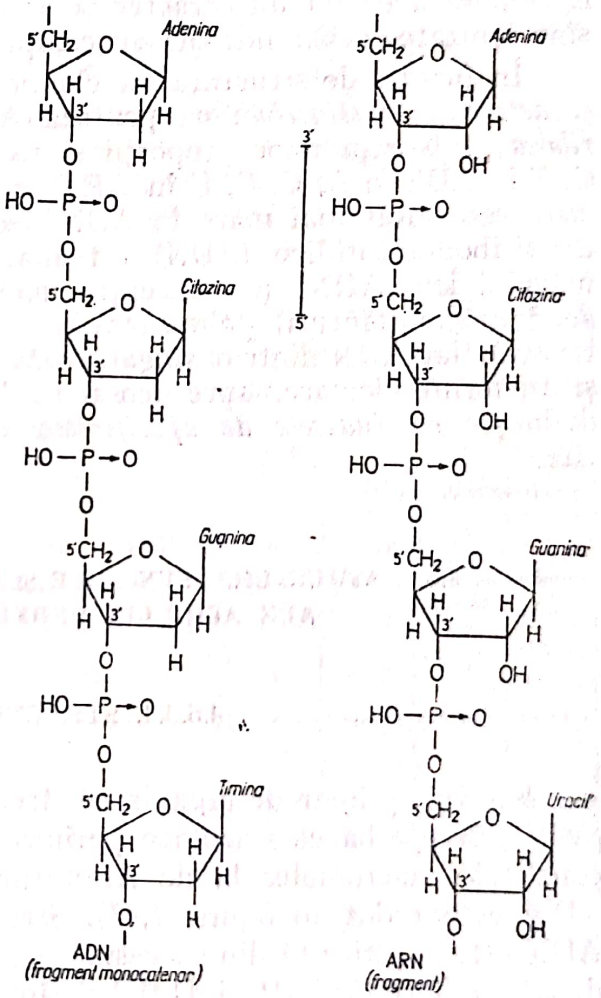


Fig. 4.43. Structura unor fragmente din macromolecula de ADN și de ARN.

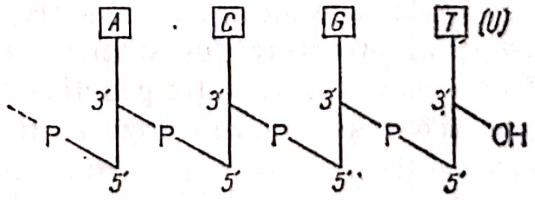


Fig. 4.44. Reprezentarea simbolică a structurii polinucleotidelor.

Scanned with OKEN Scanner

dN = deoxiribonucleotid; pN și pdN = ribonucleotide și respectiv deoxiribonucleotide cu o grupare fosfat în poziția 5′(5′—P) și o grupare 3′—OH liberă; Np și dNp = ribonucleotide și respectiv deoxiribonucleotide cu o grupare fosfat în poziția 3′(3′—P) și o grupare 5′ —OH liberă; notația NpN (sau dNpdN) indică legăturile fosfodiester 3′ → 5′ existente între nucleotidele adiacente.

În principiu, biosinteza ADN și ARN ca polinucleotide se realizează prin policondensarea trifosfat nucleotidelor în prezența enzimelor *ADN-polimeraza* și respectiv *ARN-polimeraza*. Aceste enzime necesită ca substrate de reacție trifosfat nucleotidele dATP, dGTP, dCTP, dTTP pentru biosinteza ADN și trifosfat nucleotidele ATP, GTP, CTP și UTP pentru biosinteza ARN.

Existența unor grupări fosfat ușor acide în structura acizilor nucleici le conferă acestora un caracter acid; deoarece la $pH = 7{,}0$ grupările fosfat sînt ionizate, acizii nucleici se comportă ca *polianioni*.

În funcție de structura lor chimică, acizii nucleici prezintă următoarele *caracteristici distinctive*: ca pentoză ADN conține *deoxiriboza*, iar ARN, *riboza*; existența unor proporții și secvențe diferite de *baze azotate*: A, G, C, T în ADN și A, G, C, U în ARN; numărul de unități nucleotidice *monomere* este mult mai mare în ADN decît în ARN; *lungimea lanțurilor* polideoxiribonucleotidice (ADN) este mai mare decît cea a lanțurilor poliribonucleotidice (ARN) (cu excepția unor virusuri); *ADN* este constituit din *două catene* (lanțuri) *polinucleotidice* dublu elicoidale (macromoleculă bicatenară), iar ARN dintr-o *singură catenă polinucleotidică* (ADN poate exista și în forme ciculare, spre deosebire de ARN); raportul A + T/G + C se definește ca *indicele de specificitate* al ADN și variază de la o specie la alta.

4.6.5. STRUCTURA, FUNCȚIILE ȘI PROPRIETĂȚILE MOLECULARE ALE ACIDULUI DEOXIRIBONUCLEIC (ADN)

4.6.5.1. STRUCTURA PRIMARĂ

Nivelul primar de organizare structurală a ADN indică *natura, proporția* și *secvența* bazelor azotate purinice și pirimidinice ale nucleotidelor care constituie macromolecula de ADN (un fragment din structura primară a ADN este redat în figura 4.43). Structura primară a macromoleculelor de ADN este constituită din succesiunea celor patru mononucleotide principale: dAMP, dGMP, dCMP și dTMP și sînt dispuse într-o anumită *secvență specifică* prin stabilirea de legături internucleotidice 3′ → 5′ fosfodiester. Macromoleculele de ADN ale diverselor specii se deosebesc prin numărul, raportul și secvența acestor patru unități nucleotidice care se repetă de *n* ori și care, prin structura lor diferită, conferă ADN caracterul de *biomoleculă informațională*. Informația genetică stocată în macromolecule de ADN este codificată în secvența de baze azotate (nucleotide) existentă de-a lungul catenelor polinucleotidice. Datorită complexității structurale a acizilor nucleici, determinarea structurii primare, respectiv a secvenței bazelor azotate este extrem de laborioasă și implică o ingenioasă strategie experimentală.

Scanned with OKEN Scanner

4.6.5.2. STRUCTURA SECUNDARĂ ȘI TERȚIARĂ

Structura macromoleculei de ADN se caracterizează printr-o organizare tridimensională, respectiv printr-o *conformație „sui-generis"* care îi conferă proprietăți moleculare și biologice unice. Elaborarea în anul 1953 a modelului de structură spațială a ADN de către J. D. Watson* și F. H. C. Crick* și perfecționarea ulterioară a acestui model au constituit una din marile realizări științifice ale secolului XX, au marcat o etapă de referință în științele biologice și au reprezentat actul de naștere al unui nou domeniu științific — *biologia moleculară.*

Argumentele experimentale pe baza cărora s-a elaborat *modelul* structurii spațiale a macromoleculei de ADN sînt următoarele: numărul bazelor purinice (A + G) este egal cu numărul bazelor pirimidinice (T+C); raportul $\frac{A+G}{T+C}$ este aproximativ egal cu 1,0; raporturile $\frac{A}{T}$ și $\frac{G}{C}$ sînt, de asemenea, aproximativ egale cu 1,0; suma bazelor azotate adenină și citozină este egală cu suma bazelor azotate guanină și timină: (A+C) = (G+T); relațiile cantitative dintre diferitele baze azotate sînt generale și implicit valabile pentru ADN provenit din orice sursă biologică (tabelul 4—13); adenina și timina din nucleotide se pot împerechea spațial prin stabilirea a două legături de hidrogen A :::: T, iar guanina și citozina din nucleotide se pot împerechea într-un aranjament spațial prin stabilirea a trei legături de hidrogen: G ::::C; imaginile obținute prin metoda difracției cu raze X sînt similare la ADN provenit din diferite surse, ceea ce sugerează existența unui model molecular unic pentru macromolecula de ADN.

Tabelul 4—13

Raporturile cantitative ale bazelor azotate din diferite surse biologice

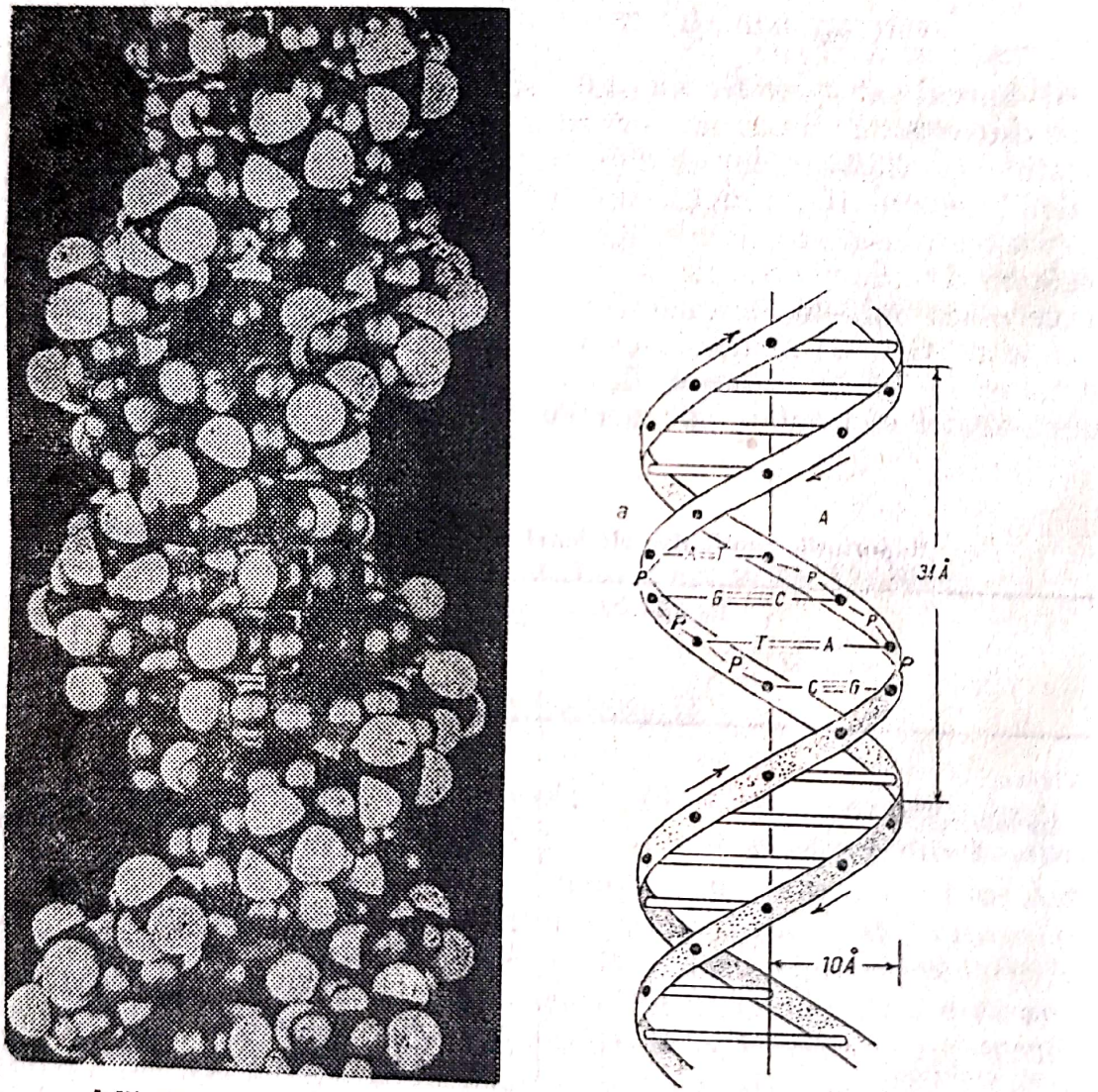
Sursa biologică	%				Raport		
	A	G	C	T	A/T	G/C	$\frac{A+G}{C+T}$
Virusuri							
Adenovirus	24,5	25,2	24,8	25,5	0,96	1,02	0,99
Virusul varicelozosterian	32,2	18,0	17,2	32,6	0,99	1,05	1,01
Bacterii							
Escherichia coli	23,8	26,0	26,4	23,8	1,00	0,98	0,99
Bacillus subtilis	28,9	21,0	21,4	28,7	1,01	0,98	1,00
Animale și om							
Broască	26,3	23,5	23,8	26,4	1,00	0,99	0,99
Pui (embrion)	28,9	23,7	21,2	26,2	1,01	1,12	1,11
Pui (ficat)	30,3	22,0	19,7	28,0	1,08	1,12	1,10
Om (ficat)	30,3	19,5	19,9	30,3	1,00	0,98	0,99
Om (timus)	29,8	20,2	18,2	31,8	0,94	1,11	1,02
Plante							
Morcov	26,7	23,1	23,2	26,9	0,99	1,00	0,99
Arahide	32,1	17,6	18,0	32,2	1,00	0,98	0,99

* Premiul Nobel, 1962

Scanned with OKEN Scanner

În conformitate cu modelul elaborat, macromolecula de ADN este constituită din *două catene (lanțuri) polinucleotidice răsucite într-o spirală dublă (dublu-helix), orientată spre dreapta*; catenele polinucleotidice sînt înfășurate în jurul unei axe comune (teoretică) și orientate *antiparalel*, în direcții opuse. Această arhitectură spațială este menținută și stabilizată prin legături de hidrogen intercatenare care se stabilesc — după o regulă specifică — între *perechi de baze azotate complementare*: A::::T și G:::::C.

Bazele azotate ale deoxiribonucleotidelor constituente ale structurii primare sînt proiectate spre interiorul („miezul") dublului helix, deci perpendicular la axa verticală a modelului structural; deoxiriboza și legăturile 3′—5′ fosfodiester care unesc mononucleotidele între ele sînt dispuse spre exterior și constituie componentele laterale ale dublului helix răsucit în jurul axei comune. Modelul structurii dublu elicoidale a ADN este prezentat în figura 4.45.



4.45. Modelul structurii spațiale dublu elicoidale a ADN:
A::::*T*, *G*:::::*C* — perechi de baze azotate complementare; *P* — legături 3′ → 5′ fosfodiester; ● — Deoxiriboză; *a*, *A* — spații compatibile pentru atașarea catenelor polipeptidice; *săgețile* indică orientarea antiparalelă a catenelor polinucleotidice; *linia verticală* — indică axa comună a modelului spațial.

O tură completă (360°) a dublului helix are o dimensiune de 34 Å și conține 10 perechi de baze azotate situate la distanțe de 3,4 Å; diametrul helixului este de 20 Å, iar dimensiunile celor două invaginări (scobituri)

— A și a — de la suprafața helixului (cea mare de 22 Å și cea mică de 12 Å) sînt compatibile pentru a putea include cîte o catenă polipeptidică.

O caracteristică definitorie a conformației dublu-elicoidale a ADN este *complementaritatea structurală* a perechilor de baze azotate intercatenare. Ca expresie a unei logici moleculare de organizare a materiei vii, acest principiu al complementarității bazelor azotate impune o anumită restricție în dispunerea bazelor azotate din cele două catene polinucleotidice antiparalele. În acest sens, o bază purinică dintr-o catenă polinucleotidică stabilește alternativ legături de hidrogen intercatenare numai cu o bază pirimidină aparținînd celeilalte catene polinucleotidice și viceversa. În mod specific, adenina se leagă de timină iar guanina de citozină, constituind astfel *perechi de baze complementare* A::::T și G::::C. Complementaritatea bazelor azotate aparținînd celor două catene polinucleotidice reflectă o compatibilitate a structurii bazelor azotate dispuse în perechi și o potrivire spațială (sterică) optimă a acestor baze. Principiul complementarității bazelor azotate indică existența a trei legături de hidrogen ce se stabilesc între guanină și citozină și a două legături de hidrogen între adenină și timină, conform formulelor de structură indicate în figura 4.46.

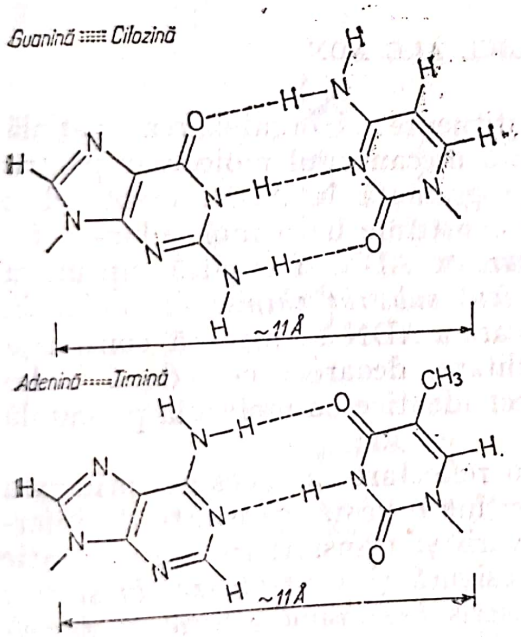


Fig. 4.46. Complementaritatea bazelor azotate cu evidențierea legăturilor de hidrogen.

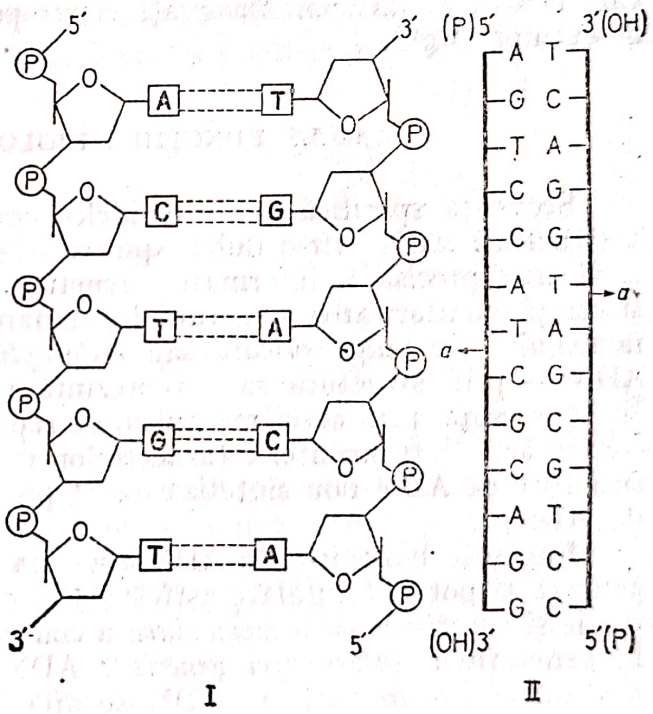


Fig. 4.47. Orientarea antiparalelă (I, II) a celor două catene polinucleotidice în structura ADN: *a* — componenta deoxiriboză-fosfat a celor două catene polinucleotidice.

Ca efect al complementarității bazelor azotate din cele două catene polinucleotidice, legăturile de hidrogen stabilite între perechile de baze azotate complementare dictează asocierea specifică a acestor catene într-o structură tridimensională compactă, menținută și stabilizată prin astfel de legături. Catenele polinucleotidice ale ADN nu sînt identice dar, datorită împerecherii bazelor azotate, fiecare devine *replica complementară a celeilalte*. Cele două catene polinucleotidice nu sînt orientate în aceeași direcție referitor la legăturile lor internucleotidice, ci în direcții opuse, adică *antiparalele* (⇄). Această orientare antiparalelă denotă că dacă două nucleo-

tide adiacente aparţinînd aceleiaşi catene şi avînd ca baze azotate T şi C sînt legate prin legături 5′ → 3′ fosfodiester, atunci nucleotidele complementare aparţinînd catenei pereche şi care au — implicit — ca baze azotate A şi G vor fi legate prin legături 3′ → 5′ fosfodiester. Orientarea antiparalelă a celor două catene polinucleotidice este evidenţiată prin reprezentările din figura 4.47.

Astfel, orientarea antiparalelă a celor două catene polinucleotidice reflectă o polaritate opusă datorită neidentităţii grupărilor terminale de la fiecare capăt (pol) al dublului helix. Deoarece direcţionarea unei catene este în sensul 3′ → 5′ şi a celeilalte în sensul 5′ → 3′, grupările terminale ale celor două catene vor fi 5′(P) şi 3′(OH) spre un capăt al lor şi respectiv 3′(OH) şi 5′(P) spre celălalt capăt; cele două catene polinucleotidice complementare devin astfel *antiparalele*.

Stabilitatea structurii spaţiale a ADN este asigurată — pe lîngă legăturile de hidrogen intercatenare — şi prin caracterul *polianionic* al macromoleculei, caracter datorat disocierii grupărilor — OH ale radicalului acidului fosforic din fiecare mononucleotid. Ca polianion, macromolecula de ADN poate stabili interacţiuni electrostatice cu proteine bazice (histone) care conţin aminoacizi încărcaţi electropozitiv sau cu anumiţi cationi, ca de exemplu Mg^{2+}.

4.6.5.3. FUNCŢIILE BIOLOGICE ALE ADN

Secvenţa specifică a nucleotidelor constituente şi organizarea spaţială a structurii ADN într-o dublă spirală asigură mecanismul molecular pentru replicarea precisă a informaţiei genetice programată în ADN. Dubla elice şi complementaritatea structurii bicatenare constituie baza moleculară a fenomenului de *autoduplicare* sau *autoreplicare* a ADN şi explică faptul că ADN — prin structura sa — reprezintă *unicul substrat chimic al eredităţii*. În consecinţă, prin acest mecanism de replicare a ADN se asigură constanţa conservării şi transmiterii caracterelor ereditare, deoarece cele două molecule fiice de ADN nou sintetizate sînt perfect identice cu molecula parentală de ADN.

Funcţiile biologice ale ADN-ului sînt o reflectare a acestui principiu general şi pot fi formulate astfel: ADN conţine o vastă cantitate de informaţie şi constituie *baza moleculară* a conservării şi transmiterii din generaţie în generaţie a *informaţiei genetice;* ADN asigură şi controlează *biosinteza proteinelor (enzimelor)*; în ADN se află înscris *programul genetic al dezvoltării, menţinerii şi perpetuării* oricărui organism (ADN-ul unui spermatozoid şi al unui ovul — după fuziunea acestor două celule — iniţiază şi controlează producerea unui organism adult); ADN asigură *diferenţierea şi reglarea celulară*, precum şi constanţa replicării celulare; ADN reprezintă *baza moleculară a mutaţiilor* naturale sau induse, precum şi a proceselor de *ameliorare a raselor de animale*.

4.6.5.4. LOCALIZAREA INTRACELULARĂ A ADN. TIPURI DE ADN

Localizarea intracelulară şi tipul de structură al ADN diferă sensibil în funcţie de gradul de evoluţie al sistemului biologic. Astfel, la *eucariote* (organisme superioare şi unele microorganisme) aproximativ 98% din totalul ADN celular se află localizat într-un compartiment intracelular individua-

Scanned with OKEN Scanner

lizat, şi anume în nucleu. Se estimează că în celulele animale cantitatea de ADN este de $4-8 \cdot 10^{-12}$ g. La organismele superioare, volumul imens al informaţiei ereditare transmis prin ADN necesită localizarea moleculelor de ADN în anumite formaţiuni ale nucleului denumite cromozomi. În nucleu, ADN-ul se află cuplat cu proteine bazice de tipul histone sau protamine care sînt repartizate destul de regulat de-a lungul dublului helix; complexul dintre ADN nuclear şi aceste proteine constituie *cromatina*. În nucleol, ADN este asociat cu ARN (heterocromatină).

ADN mitocondrial reprezintă un „ADN satelit" localizat în matricea mitocondriilor. În comparaţie cu ADN nuclear, ADN mitocondrial prezintă următoarele particularităţi: poate adopta o structură în *elice circulară simplă* sau o structură în *elice circulară dublă* (împletită); nu formează complexe cu proteinele ; are o masă moleculară mult mai mică ($1 - 5 \cdot 10^5$). Deşi incomplet elucidat, rolul ADN mitocondrial este — în orice caz — multiplu, şi anume: participă în susţinerea edificiului mitocondriilor; conţine informaţia genetică necesară pentru biosinteza unor anumite proteine intra- şi extramitocondriale; poate dirija sinteza ribozomilor cu o structură şi compoziţie proprie mitocondriilor; ca şi ADN nuclear, este sediul mutaţiilor şi poate fi apt pentru procesele de recombinare genetică.

În figura 4.48 este reprezentată structura schematică a diferitelor tipuri de ADN.

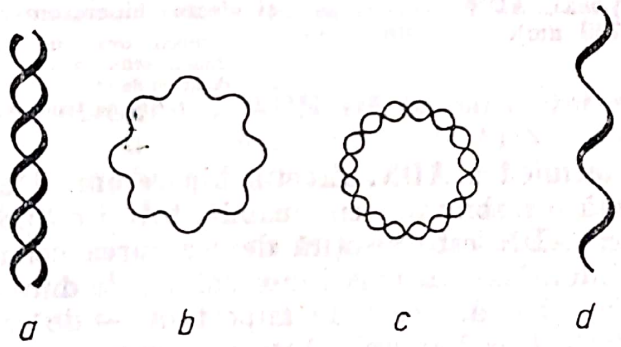


Fig. 4.48. Structura schematică a diferitelor tipuri de ADN:

a — dublă elice deschisă (nucleu eucariote); *b* — elice simplă circulară (mitocondrii); *c* — elice dublă circulară (mitocondrii, procariote); *d* — elice simplă monocatenară (bacteriofag).

4.6.5.5. PROPRIETĂŢI GENERALE ALE ADN

Proprietăţi optice. Efectul hipocrom. Existenţa în structura ADN a bazelor pirimidinice şi purinice îi conferă proprietatea de a absorbi radiaţia ultravioletă, prezentînd un maxim de absorbţie la $\lambda = 260$ nm. Această proprietate este utilizată curent pentru determinarea cantitativă a ADN pe cale spectrofotometrică. După cum rezultă din spectrele în ultraviolet prezentate în figura 4.49, absorbţia ADN la $\lambda = 260$ nm (densitatea optică) este cu mult mai mare în raport cu absorbţia unei proteine ca albumina serică bovină (ASB), ambele substanţe fiind în concentraţii egale. Valoarea absorbţiei ADN la $\lambda = 260$ nm este, totuşi, cu 35—40% mai mică decît cea pe care o prezintă bazele azotate individuale. Acest fenomen constituie *efectul hipocrom* şi se explică prin faptul că în structura dublu

elicoidală a ADN bazele azotate sînt strîns suprapuse, „stivuite" una peste alta ceea ce determină o oarecare mascare a lor; în aceste condiții, electronii π din ciclurile bazelor azotate interacționează și determină o descreștere a absorbției în ultraviolet. Această proprietate optică, respectiv efectul hipocrom este utilizat pentru calcularea gradului de spiralare (elicitate) a macromoleculei de ADN.

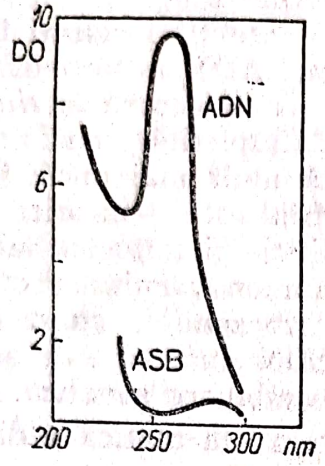


Fig. 4.49. Maximul de absorbție al ADN (λ=260 nm).

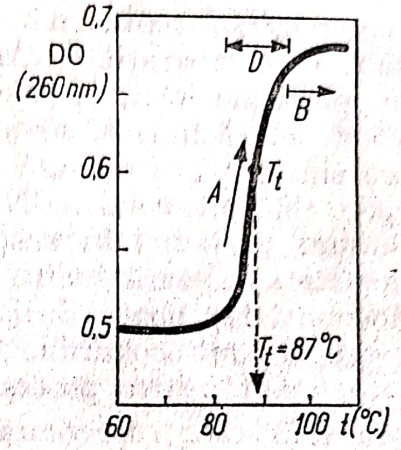


Fig. 4.50. Curba de denaturare și efectul hipercrom al ADN:
A — despiralarea dublului helix;
B — dublul helix complet despiralat;
D — domeniu de tranziție; T_t — temperatura de tranziție.

Denaturarea termică a ADN. Efectul hipercrom. Deși structura spațială a ADN prezintă o stabilitate remarcabilă, totuși ea poate fi denaturată termic. Denaturarea ADN este însoțită de separarea celor două catene ale dublului helix, de înjumătățirea masei moleculare, de diminuarea vîscozității și a rotației optice și — deosebit de important — de creșterea absorbției în lumină ultravioletă (λ = 260 nm). Această augmentare a absorbției (DO), ca rezultat al denaturării prin încălzire a ADN, poartă denumirea de *efect hipercrom* și este datorat alterării structurii spațiale a ADN, însoțită de separarea celor două catene polinucleotidice. Efectul hipercrom este o consecință a destabilizării legăturilor de hidrogen intercatenare, ceea ce are ca rezultat o tranziție de la conformația dublu — elicoidală a ADN la o stare de despiralare, de disociere a celor două catene polinucleotidice, cu separarea acestora din structura bicatenară a ADN. Temperatura la care se produce acest fenomen (80 — 90° C) este denumită temperatura de tranziție (T_t) sau *punctul de fuziune* al ADN. La T_t macromoleculele de ADN sînt pe jumătate denaturate; peste această temperatură, catenele polinucleotidice se separă complet și spontan. Reprezentarea grafică a procesului de denaturare termică a ADN cu evidențierea efectului hipercrom este redată în figura 4.50.

Renaturarea și hibridarea. Prin răcirea lentă a unei soluții de ADN, cele două catene polinucleotidice — disociate în prealabil prin denaturare termică — se pot recombina și astfel reconstitui aproape complet structura bicatenară elicoidală a moleculei de ADN, cu conservarea proprietăților biologice ale acesteia. Acest proces este denumit *renaturarea ADN* și implică reîmperecherea corectă a bazelor azotate complementare și restabilirea

orientării antiparalele a catenelor polinucleotidice. Dacă însă o soluție de ADN în prealabil încălzită pînă la temperatura de tranziție este supusă unei răciri rapide, catenele polinucleotidice separate sub efectul temperaturii nu se mai pot recombina, iar macromoleculele de ADN devin denaturate ireversibil (fig. 4.51).

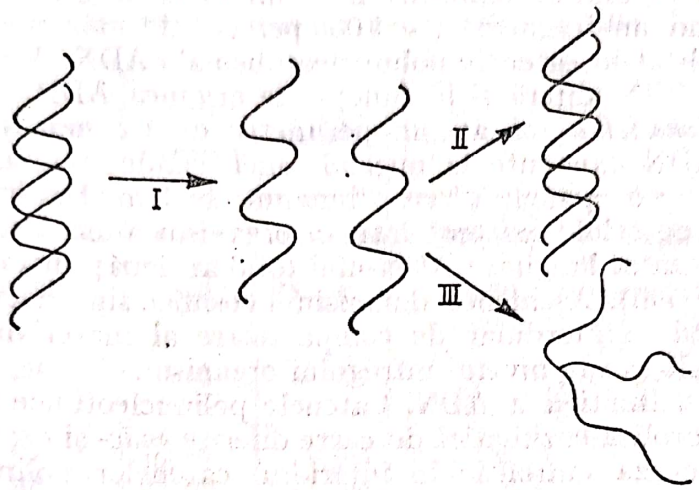


Fig. 4.51. Denaturarea și renaturarea ADN:
I — denaturare reversibilă cu separarea catenelor; *II* — renaturare; *III* — denaturare ireversibilă.

Capacitatea de renaturare a ADN stă la baza procesului (tehnicii) de *hibridare*: una sau alta din cele două catene ale ADN separate prin denaturare termică se pot recombina cu o catenă de ARN, obținîndu-se astfel o *macromoleculă hibridă ADN — ARN* cu structură dublu—elicoidală; condiția necesară și suficientă este ca secvența de baze azotate a ADN monocatenar să fie strict complementară cu secvența de baze azotate din catena ARN inițial, cu mențiunea că uracilul din ARN va ocupa, în acest caz, pozițiile corespunzătoare ale timinei din catena ADN. Un asemenea hibrid cu viață scurtă se formează și în procesul replicării ADN. Procesul de hibridare se poate petrece și între molecule de ADN avînd proveniențe diferite, cu condiția ca aceste molecule să fi fost în prealabil denaturate termic și ulterior supuse unei răciri lente. Prin acest tip de hibridare este posibilă testarea experimentală a gradului de complementaritate între diferite molecule de ADN, precum și evaluarea relațiilor dintre diferite organisme. Hibridarea între catene de ADN se realizează numai dacă acestea provin de la același organism sau de la organisme mai mult sau mai puțin înrudite filogenetic. Procesul de hibridare a ADN este ilustrat în figura 4.52.

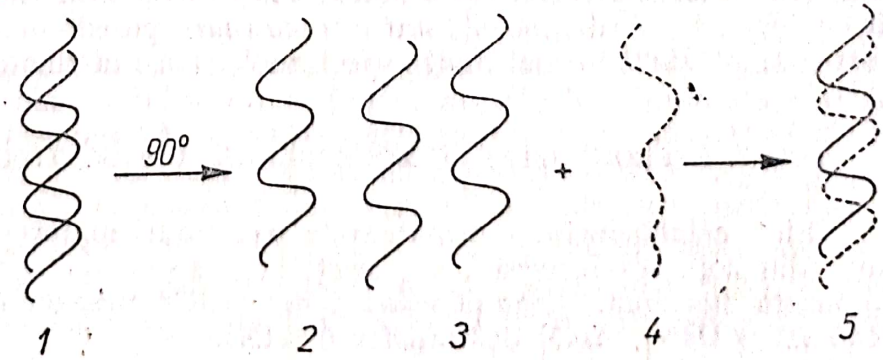


Fig. 4.52. Hibridarea ADN—ARN:
1 — ADN bicatenar; *2* — ADN monocatenar; *3* — ADN — monocatenar; *4* — ARN; *5* — ADN-ARN hibrid.

Scanned with OKEN Scanner

Dimensiuni moleculare ale ADN. Masa moleculară și lungimea macromoleculelor de ADN se caracterizează prin valori remarcabil de mari. Astfel, în funcție de proveniență, masa moleculară a ADN este de ordinul 10^6 — 10^9 la virusuri și bacterii, iar în celulele eucariote atinge valori de ordinul pînă la 10^{12}. Se consideră că la masa moleculară enormă a ADN din celulele eucariote corespund aproximativ 2—3 milioane de gene posibile, fiecare genă reprezentînd un fragment (~ 1 000 perechi de mononucleotide) precis delimitat și localizat în catenele polinucleotidice ale ADN. Lungimea macromoleculelor de ADN diferă și în funcție de originea ADN. Astfel, ADN-ul din bacteria *Escherichia coli* are un perimetru de 1,2 mm, pe cînd macromoleculele de ADN existente în nucleul unei celule animale formează — puse cap la cap — o „panglică" cu o lungime de 1 m. Dacă se ia în considerare numărul de celule existent într-un organism animal superior (~ 10^{13} celule) se estimează că lungimea ADN-ului total ar depăși distanța de la Terra la Soare ($14 \cdot 10^7$ km). Asemenea dimensiuni cosmice sînt elocvente pentru a demonstra gradul extraordinar de compactizare al materialului genetic în nucleul unei celule sau la nivelul întregului organism.

Hidroliza enzimatică a ADN. Catenele polinucleotidice ale ADN pot fi scindate prin hidroliză enzimatică de către diferite *endo-* și *exonucleaze*. Endonucleozele acționează hidrolitic în interiorul catenelor polinucleotidice, pe cînd exonucleazele la capetele catenelor polinucleotidice. Produșii de scindare ai endonucleazelor sînt oligodeoxiribonucleotidele.

Hidroliza enzimatică completă a acestora se realizează în prezența unor exonucleaze denumite *fosfodiestereze*; produșii de scindare ai fosfodiesterezelor sînt deoxiribonucleotidele.

4.6.6. STRUCTURA, FUNCȚIILE ȘI PROPRIETĂȚILE MOLECULARE ALE ACIZILOR RIBONUCLEICI (ARN)

4.6.6.1. CARACTERIZARE GENERALĂ

Acizii ribonucleici sînt polinucleotide constituite dintr-o singură catenă care conține un număr variabil de unități structurale repetitive denumite *ribonucleotide*.

Structura primară a ARN este, în principiu, similară celei a ADN, rezultînd din asamblarea celor patru ribonucleotide principale: *AMP*, *GMP*, *CMP* și *UMP*. Aceste unități structurale distincte se constituie într-o *catenă poliribonucleotidică*, în care sînt dispuse într-o anumită secvență specifică prin stabilirea de legături covalente internucleotidice de tip *3′ → 5′ fosfodiester* (modul de constituire a structurii primare a ARN este redat prin formula și reprezentarea simbolică indicată la subcapitolul 4.6.4.1). În comparație cu ADN, acizii ribonucleici sînt *monocatenari*, posedă mase moleculare mai mici și se prezintă în mai multe specii moleculare distincte.

4.6.6.2. ETEROGENITATEA MOLECULARĂ A ARN. TIPURI DE ARN

Orice celulă include următoarele trei tipuri majore de ARN care rezultă din copierea integrală sau parțială a secvenței ADN, pe baza unui mecanism molecular denumit *transcripție*: ARN mesager (*m*ARN), ARN ribozomal (*r*ARN), ARN de transfer (*t*ARN).

Scanned with OKEN Scanner

Aceste tipuri de ARN participă în procesul de *biosinteză a proteinelor* și sînt considerate ca factori de legătură informațională între ADN și proteine. Cele trei tipuri de ARN se deosebesc printr-o serie de caracteristici generale ilustrate în tabelul 4—14.

Tabelul 4—14

Caracteristici generale ale tipurilor de ARN

Tipuri de ARN	Masă moleculară	Coeficient de sedimentare	Număr nucleotide	Specii moleculare	Structură	% din total ARN
*m*ARN	$25.10^3 - 1.10^6$	6—25	75—3 000	$10^2(10^3)$	Monocatenă liniară	~5
*t*ARN	$20-30.10^3$	~4	75—90	~60	Monocatenă parțial dublu elicoidală	10—20
*r*ARN	$\sim 3,5.10^4$	~5	~100		Monocatena pliată neordonat	75—80
	$\sim 5,5.10^5$	16(18)	~1 500	3		
	$\sim 1,1.10^6$	23(28)	~3 100			

ARN mesager. Reprezintă o moleculă monocatenară a cărei secvență în baze azotate, respectiv în nucleotide este similară cu cea a uneia din cele două catene ale ADN. Molecula de *m*ARN are o lungime variabilă și nu posedă o conformație spațială ordonată. Sinteza sa este localizată în nucleul celular și se efectuează printr-un proces enzimatic de transcriere a secvenței nucleotidice de pe ADN, cu deosebirea că timina din ADN este înlocuită în *m*ARN cu uracil; rezultă astfel că bazele azotate din secvența *m*ARN sînt complementare cu bazele azotate ale uneia din catenele ADN care funcționează ca un „tipar" pentru biosinteza *m*ARN. Procesul de sinteză a *m*ARN poartă denumirea de *transcripție*; prin acest proces, informația (mesajul) genetică codificată în secvența de nucleotide a ADN este transcrisă în secvența de nucleotide a *m*ARN.

Funcția biochimică a *m*ARN este de a transmite la nivelul ribozomilor citoplasmatici „mesajul" preluat de la ADN și de a servi ca tipar (matrice, model) pentru biosinteza proteinelor. Ribozomii constituie sediul de biosinteză a proteinelor unde mesajul codificat în secvența de nucleotide a *m*ARN este *tradus* în secvența de aminoacizi a proteinelor biosintetizate. Deși reprezintă aproximativ 5% din totalul acizilor ribonucleici celulari, *m*ARN se prezintă ca o populație moleculară extrem de eterogenă, existînd sub forma a sute sau chiar a mii de specii moleculare cu mase moleculare diferite ($25 \cdot 10^3 - 1 \cdot 10^6$).

ARN ribozomal. Constituie masa preponderentă a ARN celular, reprezentînd 75 — 85% din totalul acestuia. În general, *r*ARN sînt molecule monocatenare liniare, conținînd 100 — 3 000 nucleotide și avînd mase moleculare ce variază între $3,5.10^4$ și 1.10^6. Moleculele de *r*ARN se pot prezenta și într-o formă helicoidală care rezultă însă dintr-o retrospiralare a unei singure catene poliribonucleotidice; această spiralare apare numai în regiuni limitate, și anume acolo unde este posibilă stabilirea de legături de hidrogen între bazele azotate complementare ale aceleiași catene. Acizii ribonucleici ribo-

Scanned with OKEN Scanner

zomali nu se găsesc în stare liberă, ci combinați cu proteinele formînd complexe ribonucleoproteice denumite *ribozomi*. Aceștia sînt particule citoplasmatice (agregate multimoleculare) localizate pe reticulul endoplasmatic și conțin aproximativ 65% acizi ribonucleici și 35% proteine. Ribozomii reprezintă *sediul de biosinteză a proteinelor* și au rolul de a contribui la traducerea mesajului adus de la ADN de către *m*ARN, mesaj care comandă modul de înlănțuire a aminoacizilor în proteinele biosintetizate.

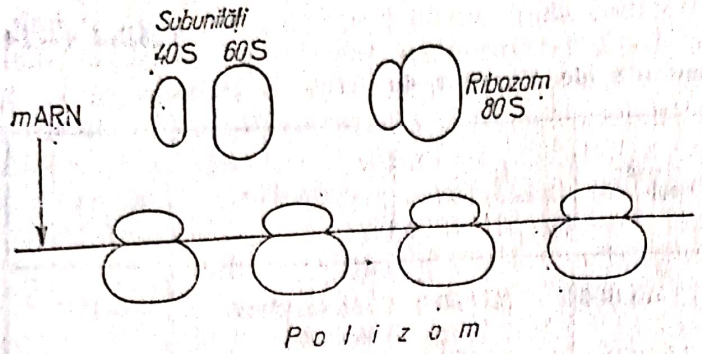


Fig. 4.53. Reprezentarea subunităților unui ribozom 80S și ale unui polizom.

Ca structură, fiecare ribozom este un *dimer* alcătuit din două subunități care diferă între ele prin coeficientul de sedimentare (*S*). Ansamblul format din mai mulți ribozomi la care se află atașat *m*ARN constituie un *polizom* (fig. 4.53).

Ribozomii din celulele eucariote posedă mase moleculare de ordinul 10^6, au un coeficient de sedimentare de 80S și disociază în două subunități de 40S și 60S, care constau din specii moleculare diferite de *r*ARN: subunitatea 40*S* din *r*ARN 18S și subunitatea 60*S* din *r*ARN 20*S* și 5*S*.

Subunitățile ribozomale se află într-un echilibru de *asociere-disociere* reglat la nivelul celular de către factori de natură proteică:

$$80S \underset{Mg^{2+}}{\overset{Na+(K+)}{\rightleftharpoons}} 40S + 60S$$

*r*ARN din fiecare subunitate ribozomală este combinat cu un număr diferit de tipuri de proteine (fig. 5.54). Aceste proteine ribozomale combinate cu *r*ARN au un caracter bazic și posedă, în general, mase moleculare mici. Proteinele ribozomale participă la modificările conformaționale în cursul biosintezei proteice, proces în care atît lanțul polipeptidic ce se formează cît și catena *m*ARN trebuie să fie translocate de-a lungul ribozomului. Din acest punct de vedere, ribozomii pot fi considerați ca *sisteme mecanochimice* din aceeași categorie de biostructuri ca actomiozina din mușchi.

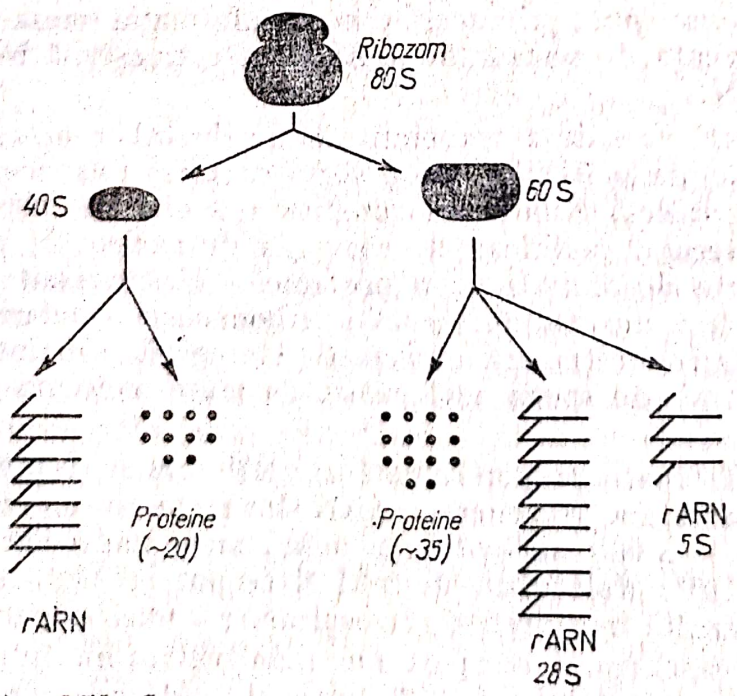


Fig. 4.54. Schema combinării speciilor moleculare de *r*ARN cu diferite proteine.

ARN de transfer. Acizii ribonucleici de transfer (*t*ARN) sau solubili sînt poliribonucleotide cu molecule mai mici decît *m*ARN și *r*ARN (23.10^3 — 30.10^3),

Scanned with OKEN Scanner

fiind constituite numai din 75 — 90 nucleotide; există în aproximativ 60 de specii moleculare diferite per celulă*. *t*ARN prezintă structuri monocatenare de un tip ordonat cu o conformație pliată; molecula constă din cîteva secvențe dublu spiralate intracatenar care rezultă din stabilirea — pe anumite porțiuni ale monocatenei — a unor legături de hidrogen între secvențe de baze azotate complementare (A—U, G—C), aduse într-o juxtapunere spațială corespunzătoare.

Speciile moleculare de *t*ARN sînt solubile în citoplasmă și neasociate cu proteinele. O trăsătură particulară a *t*ARN este prezența în moleculă — pe lîngă A, G, C, U — a unor *baze azotate atipice* ca de exemplu: U^h (dihidrouracil), U^s (tiouracil), Ψ (pseudouracil), G^m (metil guanină), T (timină), I (hipoxantină), I^m (metil hipoxantină). Rolul acestor baze azotate atipice nu este complet elucidat; se presupune că ele intervin în stabilizarea conformației *t*ARN, favorizînd interacțiunile între acele segmente ale catenei poliribonucleotidice care sînt complementare și care apar ca regiuni spiralate.

Funcția biochimică a tARN constă în legarea specifică a diferiților aminoacizi liberi din citoplasmă și transferul individual al acestora la nivelul ribozomilor. Fiecare din cei 20—22 de aminoacizi din moleculele de proteine are cel puțin un *t*ARN corespunzător. *t*ARN funcționează ca *izoacceptori* pentru diferiți aminoacizi și, totodată, ca *„molecule adaptor"* care ordonează fiecare aminoacid într-o secvență precisă în moleculele de proteine, pe baza recunoașterii mesajului genetic (informațional) conținut în secvența de nucleotide a *m*ARN atașat la ribozomi. Caracteristic este și faptul că, deși speciile moleculare de *t*ARN diferă prin secvențele lor, toate conțin însă la capătul 3′ (3′—OH) al catenei polinucleotidice o aceeași secvență de trinucleotide, și anume: pCpCpA (sau CCA); la acest trinucleotid terminal, *comun* tuturor *t*ARN se leagă covalent (în poziția 3′—OH a acidului adenilic) fiecare aminoacid care urmează a fi transferat la nivelul ribozomilor. Gruparea —COOH a unui anumit aminoacid se esterifică pe cale enzimatică cu gruparea liberă 3′—OH a acidului adenilic terminal din secvența pCpCpA a moleculei de *t*ARN, rezultînd astfel *complexul aminoacil-t*ARN care reprezintă forma activă, de transfer a aminoacidului la ribozomi:

$$pG(pN)_{75-90}pCpCpA—O—CO—\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}}—R$$

*Complexul aminoacil-t*ARN.

La suprafața ribozomilor, aminoacidul astfel transferat este cuplat enzimatic la lanțul polipeptidic în curs de sintetizare. Specificitatea legării unui anumit aminoacid este determinată de secvența de nucleotide cuprinsă între capetele (3′—OH și 5′—P) ale catenei polinucleotidice, secvență — în general — caracteristică pentru transferul fiecăruia din cei 20—22 de aminoacizi. Modelul molecular al structurii spațiale a *t*ARN care corespunde acceptabil proprietăților și funcției sale este conformația *lobată*, tip „frunză de trifoi" (fig. 4.55).

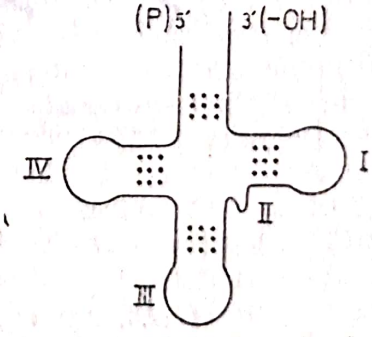


Fig. 4.55. Modelul molecular al conformației *t*ARN (I—IV, lobi).

Lobul I participă la legarea de o enzimă a aminoacidului activat sub forma complexului AMP — aminoacil; *lobul III* conține o secvență de trei nucleotide denumită *anticodon* care este

* Secvența de nucleotide a fost stabilită complet sau parțial pentru aproape 20 molecule de *t*ARN (Holley, Premiul Nobel, 1969).

specifică pentru legarea la capătul CCA a unui anumit tip de aminoacid; anticodonul recunoaşte o secvenţă complementară de 3 nucleotide — denumită *codon* — existentă în *m*ARN ataşat la ribozomi; *lobul IV* este responsabil de legarea complexului aminoacil — *t*ARN la suprafaţa ribozomului. Semnificaţia lobului mic II nu a fost încă elucidată.

4.6.6.3. HIDROLIZA ENZIMATICĂ A ARN

Moleculele de ARN sînt scindate hidrolitic sub acţiunea enzimelor generic denumite *endonucleaze* şi *exonucleaze* care diferă după originea lor biologică şi după modul de clivare a catenei poliribonucleotidice. Endonucleazele sînt *ribonucleaze* (RN-aze) care produc scindarea enzimatică în interiorul catenei ARN. Exonucleazele acţionează însă la extremităţile catenei ARN, atacul lor enzimatic propagîndu-se fie în direcţia $5' \rightarrow 3'$ a catenei polinucleotidice, fie în direcţie opusă $3' \rightarrow 5'$.

4.6.6.4. LOCALIZAREA INTRACELULARĂ A ARN

În celulele organismelor animale, diferitele tipuri de ARN sînt localizate în nucleu şi citoplasmă însă într-o distribuţie cantitativă diferită. Astfel, aproximativ 11% din totalul ARN celular se află în nucleu (mai ales ca *m*ARN), peste 50% în ribozomi (îndeosebi ca *r*ARN) şi aproximativ 24% în citoplasmă (mai ales ca *t*ARN). În celulele bacteriene, practic întregul conţinut de ARN este localizat în citoplasmă. ARN participă la structura unor virusuri care infectează celula animală, precum şi la structura unor bacteriofagi care infectează particulele virale.

În funcţie de tipul şi proveniența lor biologică, acizii ribonucleici se prezintă în diferite forme structurale indicate în figura 4.56.

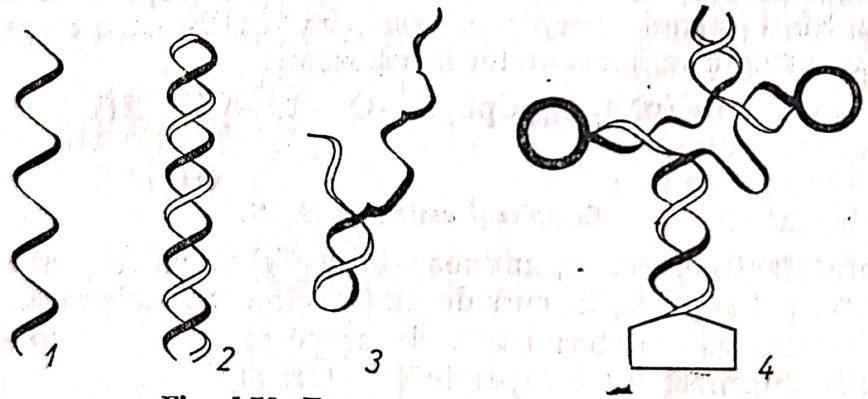


Fig. 4.56. Forme structurale ale ARN:
1 — monocatenă simplă (*m*ARN); *2* — elice dublă monocatenară (*r*ARN); *3* — monocatenă parţial elicoidală (*r*ARN); *4* — elice monocatenară structurată (*t*ARN).

4.6.7. ACIZI NUCLEICI VITRALI

4.6.7.1. CARACTERIZAREA GENERALĂ A VIRUSURILOR

Virusurile sînt considerate ca particule sau complexe supramoleculare cu o organizare tridimensională caracteristică, constituite din acizi nucleici şi proteine specifice. Structura lor extrem de simplificată, miniaturizată nu

Scanned with OKEN Scanner

le poate conferi un metabolism propriu și implicit atributul de viu, motiv pentru care virusurile se situează la limita dintre viu și neviu. Ca atare, un virus existent în stare pură, cristalizată (virion) nu se poate reproduce — *per se* —, ci numai atunci cînd a pătruns în interiorul unei celule specifice; cu această condiție se declanșează capacitatea potențială a virusului de a se autoreplica și de a invada celula devenită gazdă.

4.6.7.2. STRUCTURA CHIMICĂ A VIRUSURILOR

Toate virusurile, inclusiv bacteriofagii* sînt *nucleoproteide* alcătuite dintr-o componentă ADN sau ARN ca material genetic și o componentă proteică. Acizii nucleici virali sînt înconjurați de un înveliș (capsida) constituit din agregate de subunități proteice specifice denumite capsomere; componenta proteică reprezintă astfel o „anvelopă" al cărui miez îl formează ADN sau ARN. În funcție de efectele pe care le produce, acidul nucleic specific fiecărui tip de virus prezintă două caracteristici: este *purtătorul proprietății infectante potențiale* și *al informației genetice* responsabilă pentru autoreplicarea virusului în celula infectată. Acidul nucleic viral este codificat atît pentru replicarea sa cît și pentru sinteza învelișului său specific de molecule proteice, înveliș care este esențial pentru completarea structurii particulei virale. În funcție de tipul acidului nucleic pe care îl conțin, virusurile se clasifică — din punct de vedere chimic — în două categorii:

virusuri — ADN și *virusuri* — *ARN*.

4.6.7.3. MECANISMUL CHIMIC AL INFECȚIEI VIRALE

Indiferent de natura virusurilor, acizii nucleici virali — fie ADN, fie ARN — conțin codificat programul informației genetice și se comportă ca niște „cromozomi virali". Prin acest aparat genetic propriu, virusurile — odată pătrunse în celula gazdă — pot monopoliza sau deturna cursul normal al proceselor de biosinteză ale celulei pe care o obligă astfel să sintetizeze cu precădere componentele moleculare ale particulei virale invadante în detrimentul componentelor specifice ale celulei. În asemenea condiții, ADN sau ARN viral se atașează la ribozomii celulei gazdă, manifestînd prioritate în competiția cu *m*ARN al acestei celule. Acidul nucleic viral, care a ocupat la concurență cu *m*ARN situsurile active de pe suprafața ribozomilor, acționează ca un *tipar (model)* pentru biosinteza proteinelor învelișului viral, precum și a unor enzime necesare replicării părților componente ale structurii virusului. Prin acest mecanism, acidul nucleic viral induce *transcripția* secvenței sale într-un *m*ARN complementar, determinînd ulterior *traducerea* mesajului viral pentru formarea de proteine specifice virusului; aceste proteine se asamblează cu acidul nucleic viral producînd noi particule virale. Pe această cale, virusul se replică de multe ori într-un ritm alert, acționînd în celula respectivă ca un „cromozom de control". Procesul biochimic al multiplicării virale din celula infectată și al dereglării funcționării normale a acesteia constă din trei etape: bosinteza acidului nucleic viral, biosinteza proteinelor virale specifice, autoasamblarea structurii virusului. Ambele procese biosintetice sînt reglate de către însăși cromozomul (acidul nucleic) viral.

* Virusuri ale bacteriilor.

Scanned with OKEN Scanner

4.7. TESTE DE VERIFICARE

1. O soluție conține un amestec de următorii aminoacizi: glicocol, lizină, acid glutamic, alanină, serină și arginină. Această soluție este supusă electroforezei la $pH = 6,4$. Să se indice:
   a) direcția de migrare a acestor aminoacizi
   b) structurile lor ionizate la pH_i
   c) valorile aproximative ale zonei de pH_i pentru fiecare din aminoacizii menționați.
2. Prin hidroliza unei pentapeptide s-au obținut următorii aminoacizi: acid aspartic, lizină, histidină, cisteină, treonină. Să se stabilească structura chimică a acestei pentapeptide pe baza secvenței date de aminoacizi și să se denumească pentapeptida respectivă.
3. Catena polipeptidică din care este alcătuită o proteină se află într-o conformație α-helix. Să se indice:
   a) nivelurile de organizare care sînt implicate în structura de ansamblu a acestei proteine
   b) natura legăturilor care participă la această structură
   c) dacă prin denaturare ireversibilă proteina respectivă își modifică masa moleculară.
4. α- și β-keratina reprezintă variante conformaționale ale structurii secundare. În legătură cu aceasta, să se menționeze:
   a) caracteristicile structurale ale celor două conformații
   b) mecanismul transformării reversibile α-keratină $\rightleftharpoons$ β-keratină.
5. Pe baza datelor cunoscute referitoare la structura proteinelor, să se completeze următorul tabel:

Niveluri de organizare			
Denumire	Tipuri de legături caracteristice	Reprezentarea grafică a conformației fiecărui nivel	Morfologia moleculelor

6. Proteinele ovalbumina și lactoglobulina sînt supuse analizei electroforetice, utilizîndu-se soluții tampon cu următoarele valori de pH: 4,6 și 5,2 pentru ovalbumină, și respectiv 5,2 și 6,8 pentru lactoglobulină. Se face mențiunea că pH_i al ovalbuminei este 4,6 iar pH_i al lactoglobulinei 5,2. Să se indice:
   a) starea ionizată a celor două proteine la valorile de pH menționate
   b) direcția de migrare în cîmpul electric a celor două proteine la valorile de pH la care se efectuează electroforeza, cu interpretarea respectivă
   c) explicarea comportării celor două proteine la pH_i.
7. Se dă reacția generală: $Hb + O_2 \rightarrow$
   a) Să se completeze reacția
   b) Să se redea structura compusului rezultat
   c) Să se indice rolul biochimic al compusului rezultat.
8. Hemoglobina și mioglobina sînt cromoproteide porfirinice cu rol în transportul oxigenului. Mioglobina posedă o masă moleculară de 17 000 și prezintă o curbă de saturare cu O_2 de tip hiperbolă, în comparație cu hemoglobina care are o masă moleculară de 68 000 și care prezintă o curbă de saturare cu O_2 de tip sigmoidal. Ce concluzii se pot trage din aceste

Scanned with OKEN Scanner

date referitor la structura celor două cromoproteide și cum se explică mecanismul secvențial de creștere a capacității hemoglobinei pentru legarea O_2.

9. În organismul animal protidele exercită diferite funcții, dintre care unele sînt menționate în următorul tabel:

Protide	Funcții							
	Coagularea sîngelui	Imunologică	Transport O_2	Rezervă Fe	Contractilă	Coagularea laptelui	Hormonală	Structurală
Hemoglobină								
Feritină								
Chimozină								
Anticorpi								
Mioglobină								
Miozină								
Fibrinogen								
Insulină								
Glicoproteide								
α-keratină								
Colagen								
Fibrină								
Glucagon								

Să se indice prin semnul (+) funcția corespunzătoare fiecărei protide.

10. Se dau următorii compuși:
— guanozina — citidina
— acidul adenilic — uridina
— timidina — adenozina
a) Să se indice care din acești compuși sînt nucleozide
b) Să se indice structura nucleozidelor pirimidinice.

11. Se dau următoarele baze azotate simbolizate prin literele: A, T, G, U, C. Să se indice:
a) Denumirea acestor baze azotate
b) Structura bazelor azotate purinice
c) Care din bazele azotate menționate intră în structura ADN
d) Perechile de baze azotate complementare.

12. Se dă următoarea secvență de nucleotide dintr-un lanț al ADN, conținînd bazele azotate simbolizate prin literele: G — T — C.
Să se indice structura chimică a secvenței de nucleotide corespunzătoare din lanțul pereche al ADN.

13. Un fragment dintr-o catenă a ADN bicatenar are următoarea secvență în baze azotate (nucleotide): —A—T—G—C—T—A—. Să se stabilească structura chimică a secvenței corespunzătoare în baze azotate (nucleotide) a fragmentului de *m*ARN sintetizat.

14. Se presupune că o macromoleculă de ADN are o masă moleculară de $2{,}6 \cdot 10^6$ și că masa moleculară medie a unui nucleotid constituent este de 650. Să se calculeze numărul de perechi de nucleotide existente în macromolecula respectivă de ADN.

Scanned with OKEN Scanner

15. Să se indice:

a) dacă temperatura de tranziție a ADN $\frac{\text{crește}}{\text{nu crește}}$ cu conținutul în (G + C), argumentîndu-se opțiunea făcută.

b) în ce constă și cum se explică efectul hipercrom al ADN.

16. O celulă animală conține aproximativ 5.10^3 perechi de baze azotate, iar o genă în jur de 500. Să se calculeze numărul de gene pe care le poate conține o macromoleculă de ADN din celula respectivă.

17. Un oligonucleotid prezintă următoarea secvență ipotetică:

G p C p U p A p U p G p

Să se indice:

a) localizarea acțiunii hidrolitice a endonucleazelor

b) localizarea acțiunii hidrolitice a exonucleazelor

c) denumirea generică a produșilor rezultați prin acțiunea enzimelor indicate la punctele a) și b).

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

5

ENZIME

5.1. CONSIDERAŢII GENERALE

Ca sistem deschis, organismul viu se caracterizează printr-un dinamism continuu condiţionat de interacţiunea unui ansamblu de reacţii biochimice de degradare şi sinteză care determină metabolismul. Agenţii biochimici sau biomoleculele caracteristice care guvernează transformările de materie şi energie din organism şi care constituie baza materială a proceselor metabolice îl constituie un grup de proteine specializate denumite *enzime*.

Enzimele sînt biocatalizatori, reprezentînd o clasă specială de molecule proteice dotate cu activitate catalitică. Sintetizate de către celula vie, enzimele catalizează ansamblul de reacţii chimice termodinamic posibile, condiţionînd desfăşurarea, coordonarea şi autoreglarea acestor reacţii specifice materiei vii. Procesele catalitice constituie astfel o necesitate indispensabilă a existenţei şi funcţionării organismului viu, intervenind în menţinerea şi manifestarea funcţiilor celulare. Ca orice catalizator, enzimele sînt substanţe care modifică cinetica reacţiilor pe care le catalizează, participă în cantităţi extrem de mici la aceste reacţii şi nu se transformă în cursul desfăşurării acestora.

Enzimologia constituie un domeniu al biochimiei care se ocupă cu studiul enzimelor sub raportul structurii, mecanismelor de acţiune şi al participării lor în procesele metabolice. Datorită, mai ales, realizărilor remarcabile din ultimele două decenii, enzimologia s-a constituit ca un domeniu de primă dimensiune al biochimiei contemporane, avînd implicaţii vaste pentru diversele ramuri ale biologiei teoretice şi aplicate (agricultură, medicină, industrie).

Considerente ca instrumente primare ale expresiei acţiunii genei, enzimele catalizează miile de reacţii biochimice de sinteză şi degradare care constituie metabolismul. Din ampla constelaţie de enzime care participă la aceste reacţii, se cunosc actualmente peste o mie de enzime care au fost indentificate şi caracterizate; multe dintre ele au fost izolate în stare pură şi peste 150 au fost obţinute în stare cristalizată. Descoperirile recente din acest domeniu au permis lărgirea zonei noastre de cunoaştere şi înţelegere a rolului capital al enzimelor în activitatea celulară.

5.1.1. CARACTERISTICILE GENERALE ALE ENZIMELOR

Ca biocatalizatori *, enzimele se caracterizează prin următoarele proprietăți generale: a) sînt cei mai eficienți catalizatori cunoscuți care acționează în concentrații extrem de mici (de ordinul micromolilor $= 10^{-6}$ M) dar care manifestă o activitate extrem de intensă, determinînd reacții foarte rapide; b) nu se consumă și nu se transformă în reacțiile catalizate; c) catalizează reacții termodinamic posibile, care corespund unei diminuări a energiei libere; d) orientează și măresc viteza reacțiilor biochimice, determinînd scăderea energiei de activare a moleculelor de substrat asupra cărora acționează; e) nu modifică starea finală de echilibru a reacțiilor, ci măresc numai viteza cu care se realizează acest echilibru; f) într-o reacție reversibilă care conduce la o stare de echilibru, enzima accelerează numai cele două viteze de reacție (1 și 2) care evoluează

$$A + B \underset{2}{\overset{1}{\rightleftharpoons}} C + D$$

simultan și în sens invers, determinînd astfel atingerea mai rapidă a stării de echilibru; g) se disting printr-o specificitate a funcției catalitice, determinînd atît mecanismul de producere a unui anumit tip de reacție cît și capacitatea de a recunoaște numai un anumit reactant denumit substrat (sau un set limitat de substrate); h) asigură coordonarea, reglarea și controlul proceselor biochimice la care participă, modulînd activitatea metabolismului celular.

5.2. STRUCTURA ȘI CONFORMAȚIA ENZIMELOR

Natura proteică a enzimelor. Enzimele sînt biocatalizatori de natură proteică. În consecință, structura lor chimică de ansamblu reprezintă un edificiu macromolecular complex determinat de nivelurile de organizare structurală ale proteinelor. Totodată, enzimele posedă proprietățile generale fizice și chimice ale proteinelor.

Fiind însă o clasă specială de molecule proteice, enzimele se caracterizează — sub aspect structural — prin două trăsături generale distinctive în strînsă corelație, și anume:

a) Existența unor particularități structurale specifice care le conferă activitatea catalitică; astfel, moleculele de enzimă posedă în structura lor anumite zone, denumite *situs*uri cu o secvență de aminoacizi și o conformație caracteristice, zone care sînt esențiale pentru manifestarea activității catalitice *(situs catalitic)* sau pentru funcția de reglare *(situs allosteric)* a unor secvențe de reacții.

b) Existența unei configurații structurale spațiale a moleculei, configurație care — în ansamblul ei — este responsabilă sau contribuie la manifes-

* În concepția actuală, vitaminele și hormonii nu sînt considerați biocatalizatori.

Scanned with OKEN Scanner

tarea activității enzimatice. În figura 5.1 este redată ca exemplu configurația structurală a enzimei ribonucleaza, cu indicarea poziției diferiților aminoacizi. Conformația unei proteine enzimatice de tip globular implică existența unei regiuni interne hidrofobe a moleculei care este constituită din aminoacizi cu catene nepolare, precum și a unei regiuni hidrofile constituită din aminoacizi cu catene polare.

Situs catalitic. Manifestarea proprietăților catalitice sau reglatoare ale enzimelor este conferită de existența în structura lor moleculară a unor regiuni sau zone distincte la care se leagă în mod specific substratul de reacție sau efectorul allosteric care modulează funcția de reglare a anumitor enzime.

Substratul enzimelor (S) reprezintă un compus chimic care se poate lega specific, la o enzimă (E) și asupra căruia enzima acționează transformîndu-l în produs (produși) de reacție (P):

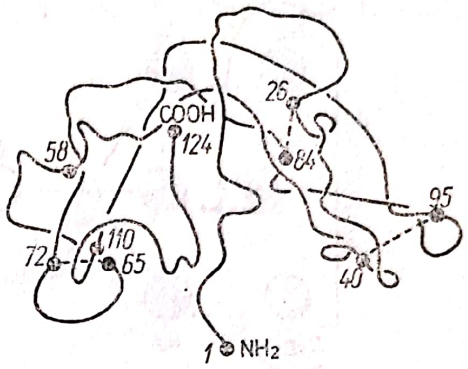


Fig.5.1. Configurația structurală a ribonucleazei.

$$E + S \rightleftharpoons (E\,S) \rightarrow E + P \text{ sau } S \xrightarrow{E} P$$

Ca structură moleculară, substratul trebuie să îndeplinească următoarele condiții: să satisfacă necesitatea de specificitate a unei enzime; să prezinte o dispunere spațială bine definită care să-i permită accesul la molecula de enzimă; să manifeste o complementaritate structurală și conformațională cu situsul catalitic al enzimei cu care trebuie să stabilească cel puțin trei puncte de interacțiune specifică; să se asocieze cu enzima pe baza unei orientări strict specifice.

Una din cele mai remarcabile proprietăți ale enzimelor este capacitatea lor de a acționa preferențial numai asupra unor anumite substraturi, proprietate denumită generic specificitate enzimatică. Această specificitate este strict determinată de existența în structura moleculei de enzimă a situsului catalitic. Între situsul catalitic al enzimei și substratul de reacție se produce o interacțiune specifică ce stă la baza catalizei enzimatice.

Situsul catalitic reprezintă o zonă specifică și delimitată constituită dintr-un număr mic de radicali de aminoacizi; aceștia formează o *geometrie* spațială perfect ordonată și structural asimetrică, la nivelul căreia se exercită proprietatea catalitică a enzimei prin capacitatea de a interacționa cu moleculele de substrat asupra cărora acționează. Situsul catalitic este localizat în porțiunea internă, hidrofobă a moleculei de protein-enzimă, iar conformația sa structurală caracteristică este determinată și stabilizată de către conformația întregului edificiu molecular al enzimei. Porțiunea hidrofobă a moleculei oferă condiții extrem de favorabile pentru realizarea transferului de electroni, de protoni sau de grupări chimice dintre enzimă și substratul legat la situsul catalitic, transfer pe care se bazează efectuarea reacțiilor catalizate de către enzime.

Scanned with OKEN Scanner

Situsul catalitic include grupări chimice active din catenele laterale ale radicalilor de aminoacizi (—OH, —NH_2, —COOH, —SH, heterociclul imidazol etc.) care — în mod individual și împreună — participă la stabilirea legăturii dintre enzimă și substrat, determinînd astfel reacția catalitică specifică (fig. 5.2).

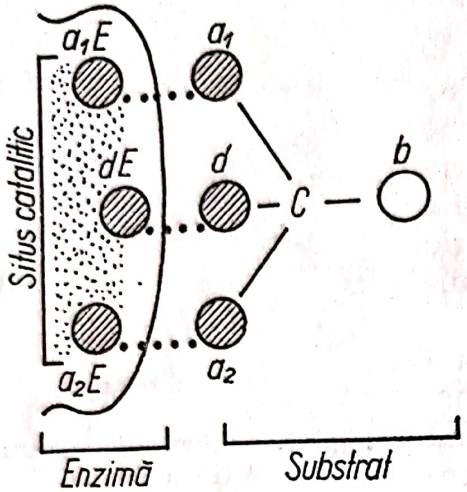


Fig. 5.2. Dispunerea substratului la situsul catalitic:

a_1, a_2, d — grupări chimice ale substratului care interacționează specific cu anumite grupări chimice ale situsului catalitic.

Interacțiunea și funcționalitatea aminoacizilor care constituie situsul catalitic sînt consecința structurii spațiale a moleculei de protein-enzimă care, prin înfășurarea sa într-o conformație nativă, stabilă, aduce anumite grupări chimice ale unor aminoacizi — distanțați (A, B, C) în secvența structurii primare — într-o anumită poziție apropiată spațial (2Å); această dispunere permite realizarea unui contact intim între grupările chimice ale aminoacizilor respectivi, determinînd astfel constituirea situsului catalitic (fig. 5.3).

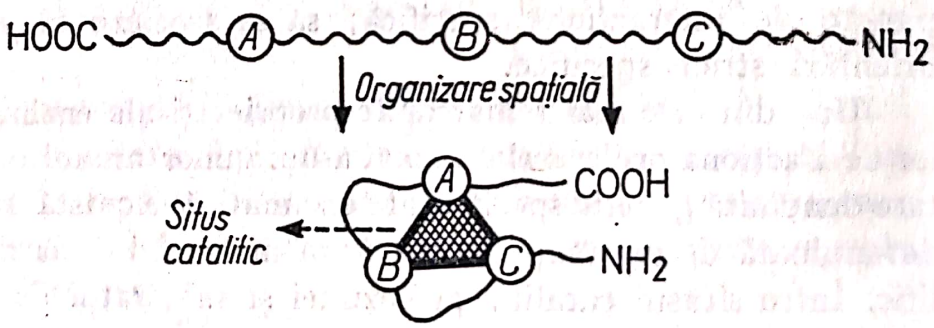


Fig. 5.3. Constituirea situsului catalitic.

De exemplu, în cazul particular al chimotripsinei — enzimă cu acțiune proteolitică — grupările chimice esențiale pentru situsul său catalitic sînt ciclul imidazol al histidinei din poziția 57 al lanțului polipeptidic și gruparea —OH a serinei din poziția 195, acești aminoacizi fiind însă separați prin 138 de radicali ai altor aminoacizi; topografia situsului catalitic al chimiotripsinei se realizează astfel prin stabilirea unui contact intim între histidină și serină pe baza legăturilor de hidrogen, contact determinat de configurația spațială a moleculei de enzimă (fig. 5.4).

Aminoacizii implicați în constituția situsului catalitic diferă prin funcția lor de alți aminoacizi componenți ai moleculei de enzimă. „Anatomia" unei astfel de molecule implică existența a patru categorii de aminoacizi: aminoacizi neesențiali, aminoacizi structurali, aminoacizi auxiliari, aminoacizi de contact sau catalitici. Ultimii prezintă o importanță determinantă pentru activitatea catalitică a enzimei, deoarece sînt constituenți ai situsului catalitic

Scanned with OKEN Scanner

și dețin un rol decisiv în legarea directă a substratului la situsul catalitic și în transformarea catalitică a substratului; radicalii acestor aminoacizi conțin grupări chimice reactive și intervin: a) ca agenți de complexare a substratului cu care stabilesc interacțiuni ionice sau covalente, b) ca donatori sau acceptori de electroni și de protoni în mecanismul catalitic de reacție, c) în stabilirea unei topografii adecvate în molecula de enzimă, necesară pentru interacțiunea substratului și coenzimei, ambele fixate la un moment dat pe molecula de enzimă.

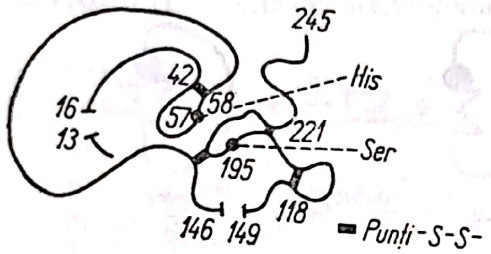


Fig. 5.4. Topografia situsului catalitic al chimotripsinei.

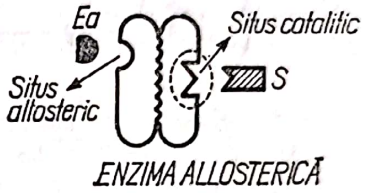


Fig. 5.5. Structura schematică a unei enzime allosterice: *S* — substrat; *Ea* — efector allosteric.

Geometria spațială a situsului catalitic este asigurată și menținută prin interacțiunea aminoacizilor structurali (care determină menținerea unei conformații ordonate și stabile a întregii molecule de enzimă) și a celor auxiliari (care permit o anumită flexibilitate a regiunilor limitrofe situsului catalitic) și, în ultimă analiză, prin organizarea spațială, respectiv conformația întregii molecule de enzimă.

Situs allosteric. O serie de enzime oligomere, constituite din două sau mai multe subunități, denumite enzime allosterice și care au rol de reglare enzimatică, conțin în molecula lor — pe lîngă situsul catalitic — și un al doilea situs numit *situs allosteric.* Existența și funcțiile situsului allosteric stau la baza teoriei allosterice care explică mecanismele de reglare enzimatică a unor reacții metabolice. În aceste mecanisme de reglare prin interacțiuni allosterice intervine, cu rol determinant, un *efector allosteric* (activator sau inhibitor) care se leagă la situsul allosteric (fig. 5.5) și astfel modulează tranzițiile moleculei de enzimă între diferite conformații posibile pe care aceasta le poate lua. Prin asemenea tranziții induse de efectorul allosteric, se realizează efectele reglatoare ale enzimelor allosterice. De fapt, conceptul de allosterism se referă la variațiile posibile ale conformației tridimensionale ale moleculei de enzimă.

Centrul catalitic. În funcție de structura lor moleculară, enzimele holoproteide își exercită proprietățile catalitice direct prin intermediul situsului catalitic, iar enzimele heteroproteide prin intermediul situsului catalitic și al unor cofactori enzimatici (coeziune, grupări prostetice, metale) indispensabili pentru manifestarea activității catalitice. Centrul catalitic reprezintă ansamblul regiunilor funcționale ale enzimei, respectiv ansamblul grupărilor chimice active care participă efectiv la reacția catalizată.

În cazul enzimelor holoproteide, care nu necesită pentru activitatea lor catalitică prezența unui cofactor, centrul catalitic este sinonim cu situsul catalitic:

$$\text{centrul catalitic} = \text{situs catalitic}$$

Scanned with OKEN Scanner

În cazul enzimelor heteroproteide, care necesită pentru activitatea lor catalitică prezența unor cofactori, centrul catalitic include situsul catalitic și regiunea din moleculă la care se atașează cofactorul (coenzima și/sau metal) (fig. 5.6):

centrul activ = situs catalitic + coenzimă + metal

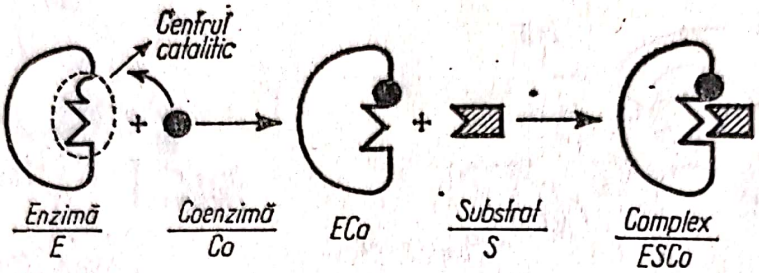


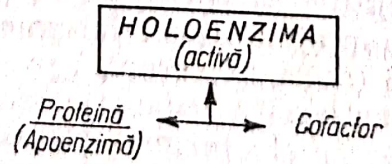
Fig. 5.6. Schema complexului enzimă-substrat-coenzimă.

5.3. APOENZIME ȘI COFACTORI ENZIMATICI

După cum s-a menționat, un rol determinant pentru funcția catalitică a enzimelor îl constituie structura și organizarea spațială a moleculei proteice purtătoare a situsului catalitic. La unele enzime, care reprezintă proteine omogene (holoproteide), proprietățile catalitice sînt exercitate în exclusivitate numai de componenta proteică pe care este localizat situsul catalitic. La alte enzime, manifestarea proprietăților catalitice este rezultanta interacțiunii și cooperării dintre componenta proteică și anumite micromolecule sau ioni metalici denumiți cofactori. Aceste enzime sînt deci eterogene, fiind constituite dintr-o componentă proteică purtătoare a situsului catalitic și denumită *apoenzimă* și o componentă neproteică denumită *cofactor* care se localizează la nivelul centrului catalitic.

Apoenzima și cofactorul — inactive catalitic ca entități separate — formează un complex molecular enzimă-cofactor denumit în terminologia clasică *holoenzimă*; complexul enzimă-cofactor este dotat cu activitate catalitică, cofactorul fiind indispensabil sau potențînd activitatea catalitică a apoenzimei:

APOENZIMA + COFACTOR = HOLOENZIMA



5.3.1. CARACTERISTICILE GENERALE ALE APOENZIMEI

Apoenzima prezintă următoarele caracteristici generale: este de natură proteică, manifestînd proprietățile generale ale proteinelor; este termolabilă și nedializabilă; în structura ei este localizat situsul catalitic și situsul allos-

Scanned with OKEN Scanner

teric (la enzime allosterice); determină legarea substratului la situsul catalitic sau a efectorului allosteric la situsul allosteric; formează complexe enzimă -substrat şi enzimă-cofactor; determină specificitatea de substrat în reacţia pe care o catalizează; manifestă grade diferite de afinitate pentru cofactor, acesta putînd fi legat labil sau foarte strîns de apoenzimă prin legături covalente; este susceptibilă de modificări conformaţionale în anumite limite permisive.

5.3.2. CARACTERISTICILE GENERALE ALE COFACTORILOR ENZIMATICI

Cofactorii enzimatici reprezintă componente neproteice de natură chimică foarte diferită, care sînt indispensabili pentru manifestarea activităţii catalitice la numeroase enzime.

Cofactorii prezintă următoarele caracteristici generale: sînt micromolecule cu structuri chimice foarte diferite, şi anume derivaţi de la vitamine, derivaţi de la hem, trifosforibonucleotide sau simpli ioni metalici; sînt indispensabili pentru manifestarea activităţii catalitice a enzimei sau pentru potenţarea acestei activităţi: sînt termostabili şi dializabili; unii pot fi uşor disociabili de apoenzimă, iar alţii sînt legaţi intim de apoenzimă; determină specificitatea de reacţie, respectiv tipul mecanismului de reacţie pe care o catalizează enzima şi la care participă sub forma complexului enzimă-cofactor.

Mecanismul general de acţiune a cofactorilor comportă diferite posibilităţi ca: a) inducerea unei conformaţii optime, necesare interacţiunii enzimei cu substratul, prin ataşarea cofactorului la suprafaţa apoenzimei; b) asigurarea dispunerii enzimei şi substratului într-un aranjament spaţial adecvat prin situarea cofactorului în vecinătatea situsului catalitic şi a substratului; c) participarea cofactorului la reacţia enzimatică prin acceptare şi transferare de electroni, atomi sau grupări chimice de la un substrat la alt substrat.

După natura chimică şi modul lor de legare la apoenzimă, cofactorii se clasifică în: coenzime, grupări prostetice, ioni metalici.

Coenzimele reprezintă micromolecule organice (majoritatea derivate de la vitamine) care se ataşează temporar la apoenzimă şi care sînt uşor disociabile de aceasta. Coenzimele sînt legate labil de apoenzimă, iar la finele unei reacţii coenzima este eliberată şi se regăseşte în starea sa iniţială, putînd astfel participa la transformarea altor molecule de substrat prin reasocierea sa la apoenzimă.

Principalele tipuri de coenzime sînt: coenzime derivate de la *vitamine*, coenzime de tip *heminic*, coenzime de tip *nucleozid trifosfat (difosfat)*.

Coenzimele acţionează ca *transportori intermediari* de electroni, de atomi sau de grupări chimice (radicali) în cadrul reacţiilor de transfer catalizate de anumite tipuri de enzime. În tabelul 5.1 sînt prezentate exemple de coenzime şi funcţiile lor biochimice.

Grupările prostetice sînt cofactori strîns legaţi de molecula apoenzimei prin legături covalente. De exemplu, hemul conţinînd ionul Fe^{2+} (Fe^{3+}) este o componentă a citocromilor (enzime cu rol în transportul electronilor) puternic legată de apoenzimă prin legături chimice de tip covalent.

Ionii metalici sînt indispensabili pentru exercitarea funcţiei catalitice a unor enzime, participînd în calitate de cofactori sau de componente structurale ale acestora; ei se leagă sub formă de *chelat* cu anumiţi aminoacizi din molecula apoenzimei. Ionii metalici acţionează fie ca grupare catalitică

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 5 1

Exemple de coenzime şi funcţiile lor

Coenzima	Tipul de reacţie	Gruparea transferată	Precursor
Nicotinamid Adenin Dinucleotid (NAD^+)	Oxidoreducere	H(electroni)	Vitamina *PP* (niacina)
Nicotinamid Adenin Dinucleotid Fosfat ($NADP^+$)	Oxidoreducere	H(electroni)	Vitamina *PP* (niacina)
Flavin Adenin Dinucleotid (FAD)	Oxidoreducere	H(electroni)	Vitamina B_2 (riboflavina)
Tiamin pirofosfat (TPP)	Transfer grupare acil	$R-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-$	Vitamina B_1 (tiamina)
Piridoxal fosfat	Transaminarea aminoacizilor	$-NH_2$	Vitamina B_6 (piridoxal)
Biotina	Fixarea CO_2	CO_2	Biotina
Acidul tetrahidrofolic (FH_4)	Metabolismul fragmentelor cu un atom de C	$-CH_3$ $-CHO$	Acidul folic
Coenzima *A* (CoA—SH)	Activarea şi transferul grupărilor acil	$R-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-$	Acidul pantotenic
Acidul lipoic	Transfer grupare acil	$R-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-$	Acid lipoic
Gruparea hem din citocromi	Oxidoreducere	Electroni	—
Nucleozid fosfaţi:			
— Adenozin trifosfat (ATP)	Fosforilare	$-OPO_3H_2$	—
— Uridin difosfat (UDP)	Biosinteza şi interconversia glucidelor	Glicozil	—
— Citidin trifosfat (CTP)	Biosinteza fosfolipidelor	Gliceridă conjugată	—

(de exemplu atomii de Fe din catalază, enzimă care descompune H_2O_2) fie ca mijloc de legare a substratului la enzimă înlesnind astfel formarea unui complex coordinativ *Ion metalic ... Enzimă ... Substrat,* fie ca activatori ai reacţiilor enzimatice.

În tabelul 5—2 sînt redate unele enzime care conţin ioni metalici drept componente structurale.

Tabelul 5—2

Enzime metal-dependente

Ioni metalici	Enzime	Ioni metalici	Enzime
$Fe^{2+}(Fe^{3+})$	Citocromi, Peroxidaze, Catalaze	Mn^{2+}	Fosfat transferaze, Peptidaze, Arginaza
$Cu^{2+}(Cu^{+})$	Citocromoxidaza, Tiroznaza, Ascorbicoxidaza	Mo^{2+}	Xantinoxidaza, Nitratreductaza
Zn^{2+}	Carboxipeptidaza, Carbonicanhidraza, Alcooldehidrogenaza	Co^{2+}	Coenzima vitaminei B_{12}
Mg^{2+}	Fosfataze, Fosfat transferaze	K^+	Piruvatfosfokinaza
		Na^+	Adenozintrifosfataza (ATP-aza)

Scanned with OKEN Scanner

5.4. ORGANIZAREA STRUCTURALĂ A ENZIMELOR

În funcție de organizarea lor structurală ca molecule proteice, enzimele se încadrează în următoarele grupe principale: enzime monomere, enzime oligomere, izoenzime, sisteme (complexe) multienzimatice.

5.4.1. ENZIME MONOMERE

Acestea prezintă o structură constituită dintr-un singur lanț polipeptidic în care este inclus situsul catalitic. Grupul enzimelor monomere cuprinde un număr restrîns de enzime care nu pot fi disociate în subunități și care posedă mase moleculare relativ mici (13 000 — 35 000). Enzimele monomere catalizează reacții de hidroliză, unele dintre ele avînd o intensă activitate proteolitică. În tabelul 5—3 sînt prezentate exemple de enzime monomere.

Tabelul 5—3

Enzime monomere

Enzime monomere	Masă moleculară	Număr de aminoacizi
Ribonuclează	13 700	124
Lizozim	14 600	129
Tripsină	23 800	223
Pepsină	35 000	306
Carboxipeptidaza *A*	34 600	307

5.4.2. ENZIME OLIGOMERE

Sînt agregate moleculare constituite din două sau mai multe subunități (protomeri) asociate într-o structură compactă, de ansamblu dotată cu proprietăți catalitice. Definirea enzimelor oligomere sub raportul organizării structurale implică noțiunile de subunitate, protomer și oligomer.

Subunitatea reprezintă un lanț polipeptidic dintr-o proteină funcțională care nu este legat covalent printr-o legătură peptidică de alte lanțuri polipeptidice, putînd fi astfel ușor separat de alte subunități componente ale structurilor oligomere. *Protomerul* reprezintă o unitate repetitivă identică dintr-o structură proteică care conține un număr finit de subunități identice. *Oligomerii* reprezintă un ansamblu (asociere) de protomeri similari sau diferiți care alcătuiesc structura de ansamblu a unei proteine dotată cu proprietăți enzimatice. În figura 5.7 este redată asocierea — realizată prin diferite interacțiuni — între doi protomeri care formează o moleculă oligomeră organizată într-o structură cuaternară.

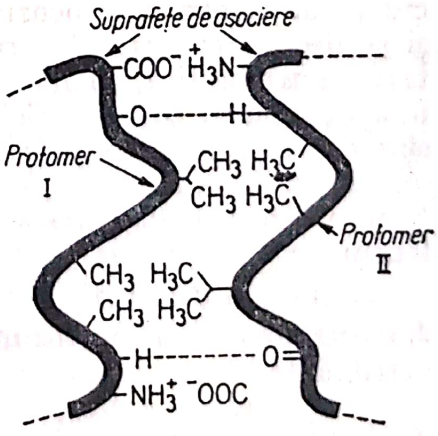


Fig. 5.7. Asocierea a doi protomeri într-o structură oligomeră.

Enzimele oligomere posedă mase moleculare mari, cuprinse între 35 000 şi cîteva sute de mii (tabelul 5—4).

Tabelul 5—4

Exemple de enzime oligomere

Enzime oligomere	Subunităţi		Masa moleculară a enzimei oligomere
	Număr	Masă moleculară	
Fosforilaza *a*	4	92 500	370 000
Hexokinaza	4	27 500	102 000
Fosfofructokinaza	2	78 000	190 000
Aldolaza	4	40 000	160 000
Lactat dehidrogenaza	4	35 000	150 000
Creatinkinaza	2	40 000	80 000

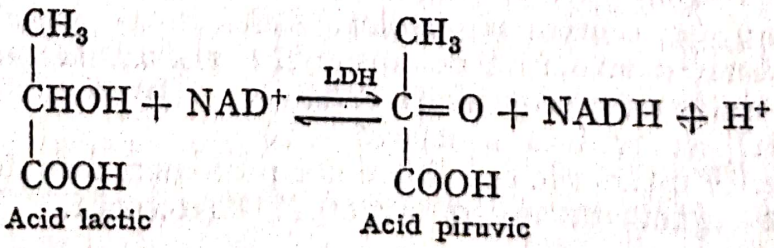
Marea majoritate a enzimelor care catalizează diferitele reacţii biochimice ale metabolismului sînt enzime oligomere. O serie de enzime oligomere funcţionează ca enzime reglatoare sau enzime allosterice; aceste enzime conţin atît situsuri catalitice cît şi situsuri de reglare denumite allosterice, care sînt dispuse pe subunităţile ce constituie agregatul oligomer. Enzimele allosterice deţin un rol determinant în reglarea şi controlul reacţiilor biochimice implicate în diferite căi metabolice.

5.4.3 IZOENZIME

Numeroase enzime prezintă fenomenul de polimorfism enzimatic, existînd în mai multe varietăţi, specii sau forme moleculare. Izoenzimele reprezintă *forme moleculare multiple* ale unei enzime care catalizează aceeaşi reacţie chimică şi care au originea în aceeaşi celulă, ţesut sau lichid biologic dintr-un anumit organism.

Deşi posedă o activitate catalitică identică manifestînd o aceeaşi specificitate de substrat, izoenzimele prezintă însă configuraţii spaţiale diferite şi se deosebesc între ele printr-o serie de proprietăţi fizico-chimice (mobilitate electroforetică, compoziţie în aminoacizi, cinetică de reacţie, comportare faţă de analogi coenzimatici, tipuri de inhibiţie) şi imunologice. Izoenzimele sînt considerate ca proteine oligomere, fiind constituite prin asocierea unui număr finit — relativ mic — de subunităţi analoage denumite protomeri. Natura izoenzimelor, respectiv bazele lor moleculare sînt determinate de fenomene genetice şi epigenetice (conformeri).

Unul din cele mai studiate cazuri de polimorfism enzimatic este *lactat dehidrogenaza* (LDH), enzimă de oxidoreducere care catalizează reacţia reversibilă:



Scanned with OKEN Scanner

LDH se prezintă ca un ansamblu de cinci tipuri de izoenzime separabile electroforetic și denumite — în ordinea descrescătoare a mobilităților electroforetice — LDH_1, LDH_2, LDH_3, LDH_4, LDH_5. Fiecare izoenzimă reprezintă un *tetramer*, fiind constituită din patru monomeri (subunități) sau lanțuri polipeptidice.

Izoenzimele LDH provin de la doi tetrameri de bază sau forme parentale denumite *tipul H* (inimă) și *tipul M* (mușchi scheletic) care sînt determinate genetic, sinteza lor fiind realizată de către două gene distincte. Monomerii constituenți ai izoenzimei de tip H sînt identici (H_4) însă diferiți de monomerii constituenți ai izoenzimei de tip M care însă și ei sînt identici (M_4). Prin asocierea tetramerică în proporții diferite a monomerilor care compun formele izoenzimatice parentale „pure" $H_4(LDH_1)$ și M_4 (LDH_5), asociere care urmează o distribuție binominală, se generează trei forme tetramere „hibride" de izoenzime desemnate ca LDH_2, LDH_3, LDH_4 (fig. 5.8).

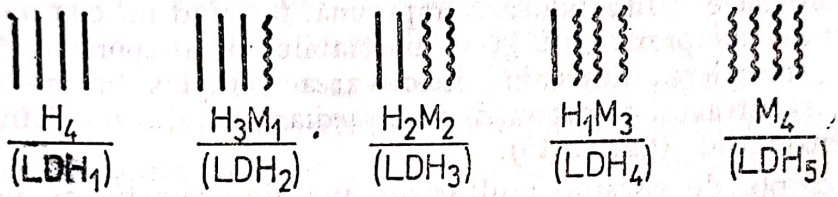


Fig. 5.8. Izoenzimele lactat dehidrogenazei (LDH).

În țesuturile cu profil metabolic oxidativ (creier, inimă, rinichi) predomină izoenzima LDH_1, în țesuturile cu metabolism glicolitic accentuat (mușchi scheletic) predomină izoenzimele LDH_5 și LDH_4. În general, în țesuturile cu metabolism oxidativ este favorizată sinteza izoenzimelor de tip H, pe cînd în cele cu metabolism anaerob glicolitic este favorizată sinteza izoenzimelor de tip M. În sperma diferitelor animale a fost pusă în evidență o a șasea izoenzimă LDH notată LDH_x care posedă o mobilitate electroforetică intermediară între cea a izoenzimelor LDH_2 și LDH_3.

5.4.4. SISTEME (COMPLEXE) MULTIENZIMATICE

Acestea reprezintă un edificiu polifuncțional constituit dintr-un număr de molecule de enzime intim asociate prin interacțiuni necovalente, care participă împreună într-o suită de reacții înlănțuite; într-o asemenea secvență, produsul de reacție catalizată de prima enzimă a sistemului multienzimatic devine substratul enzimei următoare ș.a.m.d. pînă la obținerea produsului final de reacție. În sistemele multienzimatice, enzimele componente ale sistemului constituie un „mozaic" organizat, în cadrul căruia fiecare enzimă are o anumită localizare secvențială, catalizînd o reacție din secvența de reacții și permițînd, totodată, cuplarea reacțiilor individuale care compun secvența respectivă. Sistemele multienzimatice constituie agregate moleculare cu mase moleculare de ordinul milioanelor și includ mai multe activități catalitice implicate în transformarea, printr-o secvență de reacții, a unui substrat în produsul respectiv. În funcție de gradul de complexitate al organizării lor moleculare, sistemele multienzimatice se clasifică în:

Sisteme multienzimatice simple sau disociate în care enzimele unei secvențe de reacții se află ca entități moleculare individuale în citoplasmă, nefiind

Scanned with OKEN Scanner

asociate unele cu altele în orice moment al acțiunii lor; moleculele de substrat intermediare difuzează rapid de la o moleculă de enzimă la alta (fig. 5.9).

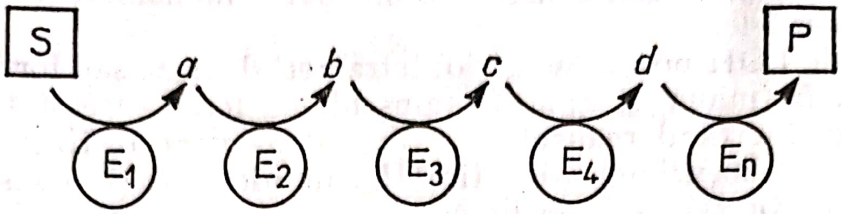


Fig. 5.9. Sistem multienzimatic simplu sau disociat:

E,— enzime componente; *S* — substrat; *P* — produs final al secvenței de reacții; *a, b, c, d* — substraturi (produși) intermediari de reacție.

— *Sisteme multienzimatice propriu-zise* în care enzimele componente sînt strîns asociate și funcționează împreună, formînd un complex enzimatic unitar; aceste complexe sînt greu disociabile în componentele enzimatice individuale, disocierea antrenînd inactivarea complexului multifuncțional; în general, substraturile (produșii) intermediare nu difuzează în afara complexului enzimatic (fig. 5.10).

Ca exemple de sisteme multienzimatice de acest tip se pot menționa complexul *α-cetoacid dehidrogenaza* și *complexul acid gras sintetaza*. Primul este constituit din trei enzime și catalizează suita de reacții prin care α-cetoacizii sînt decarboxilați oxidativ pînă la acil — Coenzima A, ca de exemplu:

$$\underset{\text{(acid piruvic)}}{CH_3 - CO - COOH} \xrightarrow[\text{dehidrogenaza}]{\text{complex piruvat}} \underset{\text{(acetil-Coenzima A)}}{CH_3 - CO - S - CoA} + CO_2$$

Al doilea complex este constituit dintr-un grup de mai multe enzime diferite care participă la biosinteza acizilor grași din acetil-Coenzima A ($CH_3 - CO - S - CoA$) și malonil — Coenzima A ($HOOC - CH_2 - CO - S - CoA$) ca precursori.

— *Sisteme multienzimatice asociate cu structuri supramoleculare* de tipul membranelor și ribozomilor. Un exemplu de asemenea sistem îl reprezintă ansamblul de enzime asociate care compun catena de respirație (oxidare)

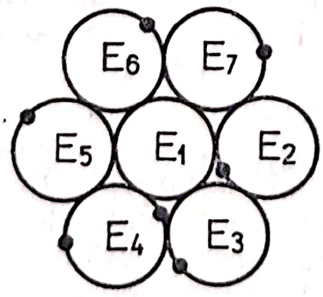


Fig. 5.10. Sistem multienzimatic (asociat):

E — enzime componente; ● — substrat (produs) intermediar.

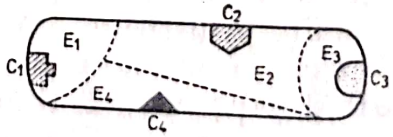


Fig. 5.11. Sistem multienzimatic cu mai multe coenzime.

celulară prin care se realizează transferul de hidrogen și respectiv de electroni de la substrate la oxigen pentru a se forma moleculele de apă; enzimele com-

Scanned with OKEN Scanner

ponente ale acestui sistem sînt atașate la membrana internă a mitocondriilor, constituind o parte integrantă a acestor organite celulare.

O caracteristică a sistemelor multienzimatice este aceea că ele funcționează cu mai multe coenzime diferite care interacționează cu enzima propriu-zisă potențîndu-i proprietățile catalitice. Reprezentarea intuitivă a unui sistem multienzimatic (E_1, E_2, E_3, E_4) în care participă mai multe coenzime (C_1, C_2, C_3, C_4) este redată în figura 5.11.

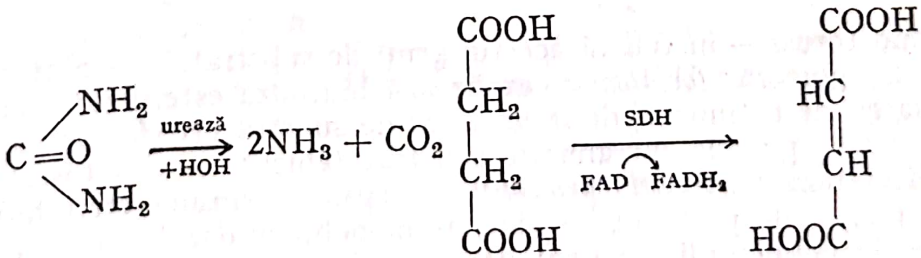
5.5. SPECIFICITATEA ENZIMELOR

Una din cele mai remarcabile și caracteristice proprietăți ale enzimelor este specificitatea lor, datorită căreia acționează preferențial numai asupra unui anumit substrat sau grup de substrate. Specificitatea enzimelor se manifestă ca o proprietate ce derivă din existența, structura și conformația caracteristică a situsului catalitic, precum și din complementaritatea dintre situsul catalitic și configurația structurală a moleculei de substrat. Enzimele prezintă o *specificitate dublă* care se manifestă ca specificitate de substrat și ca specificitate de acțiune.

5.5.1. SPECIFICITATEA DE SUBSTRAT

Aceasta include mai multe tipuri, și anume:

Specificitatea absolută. Enzima acționează *strict* numai asupra unui anumit substrat; de exemplu, enzima ureaza acționează numai asupra ureei, ca substrat, iar enzima succinat dehidrogenaza (SDH) numai asupra acidului succinic ca substrat:



Uree — Acid succinic — Acid fumaric

Ca variante ale specificității absolute sînt stereospecificitatea și specificitatea geometrică.

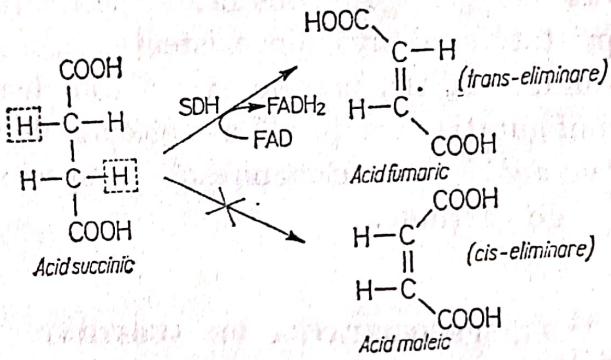
Stereospecificitatea. Enzima acționează numai asupra unuia din izomerii unui substrat, preferîndu-l în raport cu alt izomer, ca de exemplu izomerii

optici (dextrogiri, levogiri) sau stereoizomerii L și D ai aminoacizilor:

$$\text{L - aminoacizi} \xrightarrow[\text{oxidaza}+O_2]{\text{L- aminoacid-}} \alpha\text{ - cetoacizi} + NH_3 + H_2O_2$$

$$\text{D - aminoacizi} \xrightarrow[\text{oxidaza}+O_2]{\text{D- aminoacid-}} \alpha\text{ - cetoacizi} + NH_3 + H_2O_2$$

Specificitatea geometrică. Enzima acționează asupra izomerilor geometrici *cis-trans*, catalizînd transformarea asimetrică a unui substrat cu moleculă simetrică și formarea ca produs a unui izomer specific; de exemplu, succinat dehidrogenaza (SDH) catalizează preferențial dehidrogenarea substratului său — acidul succinic — prin eliminarea a 2H în poziția trans, cu formarea trans — izomerului respectiv, acidul fumaric:



Specificitatea relativă de grup. În acest caz, enzima manifestă un spectru larg de activitate, acționînd asupra unui grup de substraturi ai cărui membri prezintă o constituție chimică asemănătoare. De exemplu, *hexokinaza* catalizează fosforilarea, în prezența ATP, a unei serii de hexoze ca substraturi:

$$\text{Hexoză} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{Hexokinaza}} \text{Hexozofosfat} + \text{ADP}$$

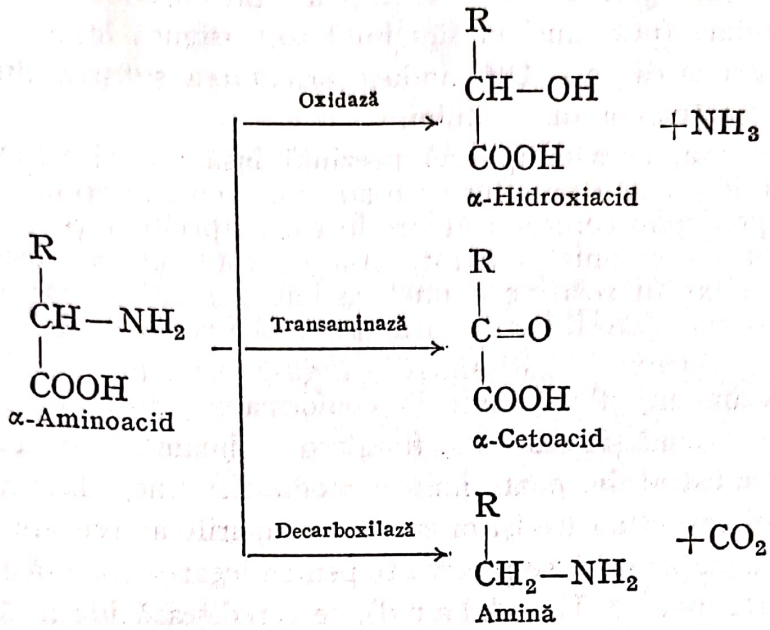
manifestînd totuși — în cadrul acestui grup de substraturi — o afinitate mai mare pentru glucoză; *fosfatazele* catalizează hidroliza esterilor fosforici avînd o gamă largă de acțiune — de la un grup de substraturi (fosfomonoesteraze, fosfodiesteraze) pînă la un anumit substrat (glucozo — 6 — fosfataza, adenozin trifosfataza); *enzimele proteolitice* (pepsina, tripsina etc.) hidrolizează un mare număr de proteine, pe cînd aminopolipeptidazale scindează hidrolitic catenele polipeptidice numai de la capătul N — terminal, iar carboxipolipeptidazele numai de la capătul C — terminal.

5.5.2. SPECIFICITATEA DE ACȚIUNE

În funcție de specificitatea lor pentru substrat și de modul de acțiune asupra acestuia, enzimele catalizează un anumit tip de reacție bine determinată. De exemplu, un α-aminoacid poate constitui substrat de reacție pentru

Scanned with OKEN Scanner

mai multe enzime care catalizează reacţii diferite — însă specifice — de transformare a aceluiaşi substrat, cu formarea de produşi diferiţi de reacţie:



Se constată astfel că fiecare enzimă manifestă o anumită specificitate de acţiune, catalizînd un anumit tip de reacţie biochimică.

5.6. MECANISME IMPLICATE ÎN CATALIZA ENZIMATICĂ

Referitor la mecanismul interacţiunii dintre enzimă şi substrat s-au emis diferite ipoteze şi interpretări, ca de exemplu:

— *Ipoteza tip „lacăt — cheie"*. Această ipoteză postulează existenţa unei complementarităţi reciproce între „geometria" moleculei de substrat (*S*) şi „geometria" situsului catalitic al enzimei (E). Potrivirea riguroasă a substra-

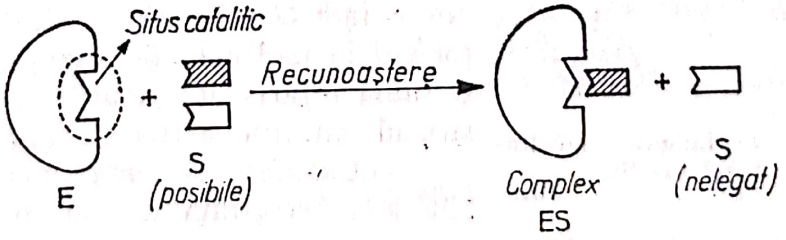


Fig. 5.12. Compatibilitatea dintre enzimă (*E*) şi substratul (S) său de reacţie.

tului (*S*) la situsul catalitic creează astfel o compatibilitate prin care se favorizează recunoaşterea de către enzimă a substratului său specific şi formarea complexului binar de tranziţie ES (fig. 5.12). Molecula de substrat se dispune astfel riguros în spaţiul situsului catalitic, în conformitate cu topografia şi orientarea sa sterică. În legarea temporară a substratului la situsul catalitic, intervin, în general, trei tipuri de catene laterale de aminoacizi care intră

în constituția situsului catalitic, și anume: o catenă prin care se asigură *legarea*, o catenă care induce *orientara sterică* și o catenă care determină *activarea* substratului legat. Astfel, în exemplul citat anterior referitor la chimotripsină, histidina (prin nucleul său imidazol) asigură legarea substratului, serina (prin gruparea sa — OH) induce orientarea substratului, iar triptofanul produce activarea substratului.

Deși operantă, această ipoteză prezintă însă anumite limite în sensul că situsul catalitic s-ar comporta ca o structură cu conformație fixă, rigidă. Ipoteza este pe deplin corespunzătoare în cazul specificității absolute a unei enzime pentru un anumit substrat, însă ea este puțin adecvată în cazul explicării specificității relative a unei enzime pentru un grup mai larg de substraturi, tocmai datorită structurii presupuse rigide a situsului catalitic.

— *Ipoteza potrivirii („ajustării") induse.* Această ipoteză postulează existența unei anumite flexibilități în conformația situsului catalitic. Interacțiunea dintre enzimă și substrat ar fi un proces dinamic cooperant, în sensul că apropierea substratului poate induce modificări fine, discrete în conformația situsului catalitic care își orientează grupările active ale aminoacizilor astfel încît se „adaptează", se potrivește pentru legarea corectă a substratului. Conform acestei ipoteze (K o s h l a n d), se acreditează ideea că legarea substratului impune moleculei de enzimă o anumită conformație aptă de a forma complexul ES. Înainte de legarea substratului, situsul catalitic este într-o formă relaxată, iar grupările sale chimice nu se află într-o poziție optimă de fixare a substratului; odată însă cu legarea substratului, acesta induce o potrivire, o „ajustare" a situsului catalitic care capătă o poziție geometrică favorabilă, optimă pentru formarea compexului intermediar *ES* și transformarea catalitică ulterioară $S \rightarrow P$. Potrivirea indusă reclamă o flexibilitate a situsului catalitic a cărui conformație devine compatibilă cu conformația substratului (fig. 5.13). În cazul enzimelor a căror activitate este dependentă de acțiunea unor cofactori (coenzime), modificările conformaționale ale situsului catalitic pot fi induse prin legarea inițială a cofactorului la molecula de enzimă, fapt ce determină legarea ulterioară a substratului la situsul catalitic astfel „adaptat".

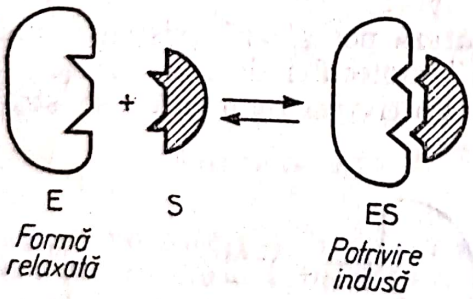
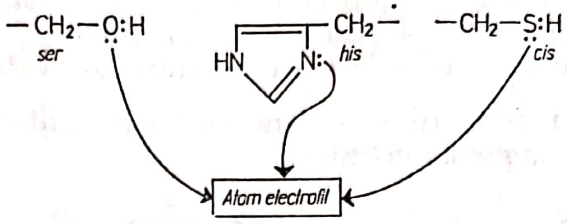


Fig. 5.13. Potrivirea indusă a substratului la situsul catalitic.

— *Cataliza covalentă.* Legarea reversibilă a substratului (*S*) la situsul catalitic se poate realiza prin stabilirea de legături covalente cu formarea unui intermediar enzimă — substrat (*ES*) instabil și foarte reactiv; în aceste condiții, transformarea $S \rightarrow P$ se efectuează cu o viteză de reacție crescută, prin scăderea energiei de activare. Formarea compușilor intermediari covalenți devine posibilă prin intermediul unor grupări chimice nucleofile (capabile să doneze electroni) ale următorilor aminoacizi din constituția situsului catalitic: *serina, histidina, lizina, cisteina.* Legăturile covalente se stabilesc între acești aminoacizi și substratul de reacție, pe baza unui meca-

Scanned with OKEN Scanner

nism care implică atacul nucleofil al grupărilor chimice din constituția situsului catalitic la un atom C electrofil din molecula substratului:



— *Cataliza generală prin acizi și baze.* Cataliza prin acizi și baze poate determina o accelerare a vitezei de reacție. Mecanismul constă în capacitatea enzimelor ca, prin anumite grupări chimice (—COOH, —NH_2, —OH, —SH, ciclul imidazol), să funcționeze ca acizi sau ca baze prin cedare sau acceptare de protoni (H^+). De exemplu, ciclul imidazol din histidină prezintă viteze de protonizare și deprotonizare foarte rapide și se comportă (la pH adecvat) ca un donor sau acceptor de H^+, participînd astfel la cataliza prin acizi și baze:

5.7. MECANISMUL REACȚIILOR ENZIMATICE

Mecanismul prin care enzimele își exercită funcția lor catalitică include ansamblul următoarelor evenimente moleculare principale care caracterizează procesul enzimatic: a) asocierea specifică a enzimei (E) cu substratul (S) asupra căruia acționează formînd un *complex intermediar enzimă — substrat* (ES) disociabil; b) manifestarea specificității enzimei în raport cu un anumit substrat sau grupe de substraturi cărora le conferă o orientare spațială precisă; c) activarea, respectiv scăderea energiei de activare a moleculelor de substrat (S^*); d) procesul catalitic efectiv prin care molecula de substrat activată este transformată în produs de reacție (P).

Pe baza acestor considerente generale, o reacție enzimatică poate fi formulată astfel:

$$E + S \rightleftharpoons ES \rightleftharpoons P + E$$

Mecanismul general al reacțiilor enzimatice comportă interacțiunea a două categorii de fenomene: unul *termodinamic* și unul *cinetic*.

Energia de activare. Sub raport termodinamic, efectul catalitic al enzimelor se manifestă în sensul *scăderii energiei de activare* a moleculelor de substrat, fenomen care determină mărirea vitezei de reacție cu care se realizează transformarea catalitică $S \xrightarrow{E} P$. Condiția necesară pentru ca o reacție să se producă efectiv este ca moleculele care reacționează să se afle într-o stare activată. Astfel, pentru ca moleculele substratului (S) să reacționeze

și să se transforme în produsul (P) este necesar ca populația de molecule S să posede la un moment dat suficientă energie pentru a dobîndi o stare activată (S^*). Atingerea acestei stări activate (șocuri intermoleculare eficace) conferă moleculelor respective capacitatea de a reacționa, determinînd formarea produsului de reacție și atingerea stării finale.

Trecerea de la o stare inițială (S) la o stare activată — tranzitorie — (S^*), în decursul transformării $S \xrightarrow{E} P$, necesită o anumită cantitate de energie (ΔE) denumită *energie de activare*:

$$\underset{\text{(Stare inițială)}}{S} + E \longrightarrow \underset{\text{(Stare de tranziție)}}{S^*} \xrightarrow{E} \underset{\text{(stare finală)}}{P}$$

Transformarea chimică $S \xrightarrow{E} P$ se realizează astfel prin intermediul unei stări de tranziție (S^*) care reflectă o activare (excitare) a moleculelor reactante (S); starea de tranziție indică faptul că aceste molecule sînt aduse la un nivel energetic superior, în raport cu nivelul energetic inițial, adică ating o stare activată caracteristică limitei maxime a barierei de activare.

Energia de activare (ΔE) reprezintă deci o valoare termodinamică ce exprimă *diferența finită între nivelul de energie al stării de tranziție a moleculelor activate și nivelul energetic al moleculelor aflate în stare inițială.* Prin energia de activare se desemnează astfel cantitatea de energie (în calorii și la o temperatură dată) necesară pentru ca toate moleculele dintr-un mol de substanță să atingă o stare activată. Ca orice catalizator, enzimele *scad* energia de activare a moleculelor de substrat. De exemplu, valoarea energiei de activare (ΔE) în cazul reacției:

$$H_2O_2 \rightarrow H_2O + 1/2O_2$$

este: $\Delta E = 18\,000$ calorii/mol în absență de catalizator

$\Delta E = 12\,000$ calorii/mol în prezență de catalizator metalic (Pt)

$\Delta E = 6\,000$ calorii/mol în prezența enzimei catalaza.

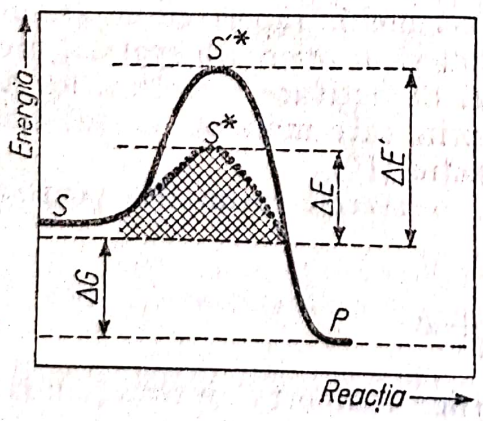


Fig. 5.14. Scăderea energiei de activare în reacțiile catalizate:

S, substrat; S^*, substrat activat (în prezență de catalizator); S'^*, substrat activat (în absență de catalizator); P, produs de reacție; ΔE, energia de activare în reacția catalizată; $\Delta E'$, energia de activare în reacția necatalizată; ΔG, diferența în energia liberă a reacției $S \rightarrow P$; ... reacție catalizată de enzimă; — reacție necatalizată.

Procesul de scădere a energiei de activare a moleculelor S în prezența enzimelor are cîteva consecințe extrem de importante, și anume: a) creșterea vitezei de producere a stării de tranziție; b) creșterea coliziunilor intermoleculare, a numărului de molecule activate și implicit a potențialului lor reactiv; c) accelerarea vitezei de reacție a moleculelor activate pentru transformarea lor în produsul (produșii) de reacție. Mecanismul reacțiilor enzimatice prin scăderea energiei de activare este ilustrat în figura 5.14.

Scanned with OKEN Scanner

Din această diagramă a profilului energetic pentru reacția $E \xrightarrow{E} P$, rezultă că enzima determină o scădere a energiei de activare (ΔE) în reacția pe care o catalizează, în comparație cu energia de activare în reacția necatalizată ($\Delta E'$). Deci, în reacția catalizată $\Delta E < \Delta E'$, fapt ce denotă că un procent mai mare de molecule se vor găsi în stare activată în prezența enzimei, devenind astfel apte de a reacționa cu o viteză mai mare de reacție.

5.8. CINETICA REACȚIILOR ENZIMATICE

În funcție de sensul lor de evoluție, reacțiile catalizate de enzime pot fi *reversibile* de tipul $E + S \rightleftharpoons ES \rightleftharpoons E + P$ sau *ireversibile* de tipul $E + S \rightleftharpoons ES \rightarrow E + P$. În secvențele de reacții metabolice în care produsul unei reacții devine substrat pentru reacția următoare, echilibrul este deplasat într-un sens preferențial impus de necesitățile metabolismului celular.

Mecanismul de acțiune al enzimelor și implicit manifestarea funcțiilor catalitice ale acestora pot fi exprimate și interpretate în termeni cinetici. *Cinetica chimică*, în speță, *cinetica enzimatică*, studiază procesele chimice sub raportul vitezelor de reacție, respectiv al evoluției în timp a transformărilor caracteristice unei reacții chimice.

5.8.1. VITEZA DE REACȚIE (v)

O reacție chimică reprezintă un proces dinamic în care, pornindu-se de la o stare inițială, moleculele reactante sînt transformate ajungîndu-se la o stare finală. Acest proces se desfășoară în timp cu o anumită viteză (v). *Viteza de reacție*, mărime cu care operează cinetica enzimatică, se definește ca fiind cantitatea de substrat (S) care se transformă în unitatea de timp (t) și se exprimă prin relația:

$$\boxed{v = -\frac{dS}{dt}}$$

În cazul unei reacții enzimatice de tipul: $S + E \rightleftharpoons ES \rightleftharpoons P + E$, în fiecare moment viteza de reacție este proporțională cu cantitatea de substrat încă netransformat (restantă), adică: $v = K(S - x)$, unde x reprezintă cantitatea de substrat transformată. Viteza de reacție constituie un parametru de exprimare cantitativă a activității enzimatice.

5.8.2. ORDINUL DE REACȚIE

Sub raport cinetic, reacțiile chimice inclusiv cele enzimatice se diferențiază printr-un anumit ordin cinetic de reacție care exprimă dependența vitezei de reacție de concentrația reactanților. În general, ordinul de reacție reprezintă suma exponenților (puterilor) la care sînt ridicate diferitele concentrații ale reactanților din ecuația cinetică a unei reacții. Reacțiile frecvent întîlnite sînt de ordinul zero și de ordinul întîi.

Scanned with OKEN Scanner

În cazul unei reacții generale de tipul $S \rightarrow P$, viteza de reacție (v) se poate exprima prin transformarea sau dispariția reactantului S în unitatea de timp ($-d[S]/dt$) sau prin formarea produsului P în unitatea de timp ($+d[P]/dt$):

$$v = -\frac{d[S]}{dt} = +\frac{d(P)}{dt} = K[S]^n \qquad (1)$$

în care K reprezintă constanta vitezei de reacție care are o valoare determinată în condiții standard de reacție, depinzînd numai de concentrația reactantului [S]; exponentul n reprezintă ordinul de reacție.

Pentru $n = 0$, $v = K[S]^\circ = K$; relația (1) corespunde unei *reacții de ordinul zero.*

Pentru $n = 1$, $v = K[S]^1 = K[S]$; relația (1) corespunde unei *reacții de ordinul întîi.*

Dacă expresia vitezei de reacție este $v = K[S]^x \cdot [B]^y$, reacția respectivă are ca ordin suma $(x + y)$. *Reacțiile de ordinul zero* sînt cele în care viteza de reacție este constantă, nedepinzînd de concentrația reactantului (substratului); în acest caz, enzima este saturată cu substrat, iar v este maximă și constantă. *Reacțiile de ordinul întîi* sînt cele în care viteza de reacție crește direct proporțional cu concentrația reactantului conform relației:

$$v = -\frac{dS}{dt} = K[S - x]$$

Rezultă astfel că diminuarea în timp a cantității de substrat restant $[S - x]$ este proporțională cu diminuarea vitezei de reacție.

Ordinul unei reacții se poate stabili experimental, măsurînd viteza de reacție la diferite concentrații ale reactantului [S] și determinînd valoarea lui n. Un caz frecvent pentru reacțiile enzimatice este cel în care într-o fază inițială reacția este de ordinul întîi, tinzînd să se transforme într-o fază ulterioară în reacție de ordinul zero. Deci, în anumite condiții, reacțiile pot fi de *ordin mixt.*

5.8.3. FACTORII CARE INFLUENȚEAZĂ CINETICA REACȚIILOR ENZIMATICE

Cinetica reacțiilor enzimatice respectiv viteza de reacție este dependentă de o serie de factori, și anume: concentrația enzimei, concentrația substratului, afinitatea enzimei pentru substrat, temperatura, *p*H-ul, efectorii enzimatici.

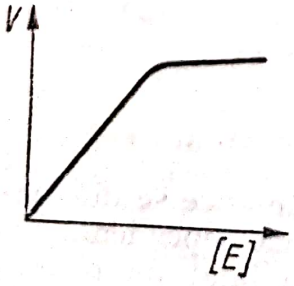


Fig. 5.15. Influența concentrației enzimei asupra vitezei de reacție.

5.8.3.1. CONCENTRAȚIA ENZIMEI

În condițiile în care concentrația substratului este constantă, viteza de reacție (v) inițială este direct proporțională cu concentrații crescînde ale enzimei, între anumite limite; la concentrații crescute de enzimă [E] viteza de reacție devine însă constantă (fig. 5.15).

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

5.8.3.2. CONCENTRAȚIA SUBSTRATULUI. CONSTANTA MICHAELIS.

În condițiile în care concentrația enzimei este menținută constantă iar concentrația substratului [S] crește, viteza reacției enzimatice variază după o curbă care corespunde unei hiperbole echilatere ce tinde asimptotic la valoarea maximă a vitezei. Inițial, creșterea concentrației substratului determină o creștere rapidă a vitezei de reacție (reacție de *ordinul întîi)*; ulterior, viteza de reacție crește lent (reacție de ordinul *zero și întîi)* și, final, la concentrații mari de substrat, devine maximă căpătînd o valoare constantă (reacție de *ordinul zero*). Aceste date experimentale sînt redate în figura 5.16.

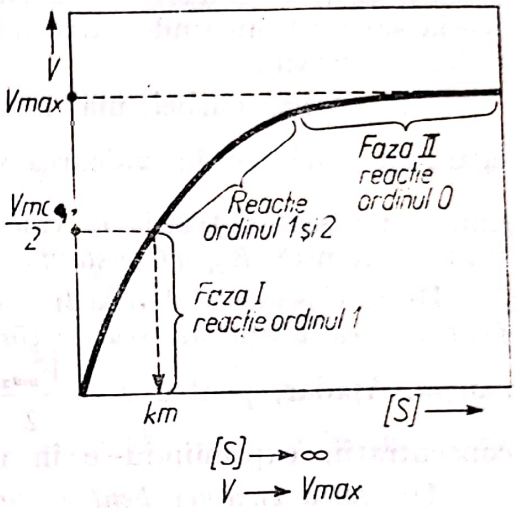


Fig. 5.16. Influența concentrației substratului asupra vitezei de reacție.

Cinetica reacției enzimatice, care exprimă dependența vitezei de reacție de concentrația substratului la o concentrație constantă de enzimă are astfel un caracter *bifazic*: în faza I, viteza de reacție (v) variază proporțional cu creșterea concentrației de substrat [S], fapt ce denotă că la concentrații mici de substrat situsurile catalitice ale moleculelor de enzimă nu sînt saturate cu substrat; în faza a II-a, reacția este de ordinul zero, deoarece viteza de reacție atinge o valoare maximă ($v = V_{max}$) și devine constantă, independentă deci de creșterea concentrației substratului; acest fapt denotă că la concentrații mari de substrat (deci în exces de molecule de substrat) toate situsurile catalitice ale moleculelor de enzimă devin complet saturate cu substrat, iar enzima acționează la „capacitatea maximă".

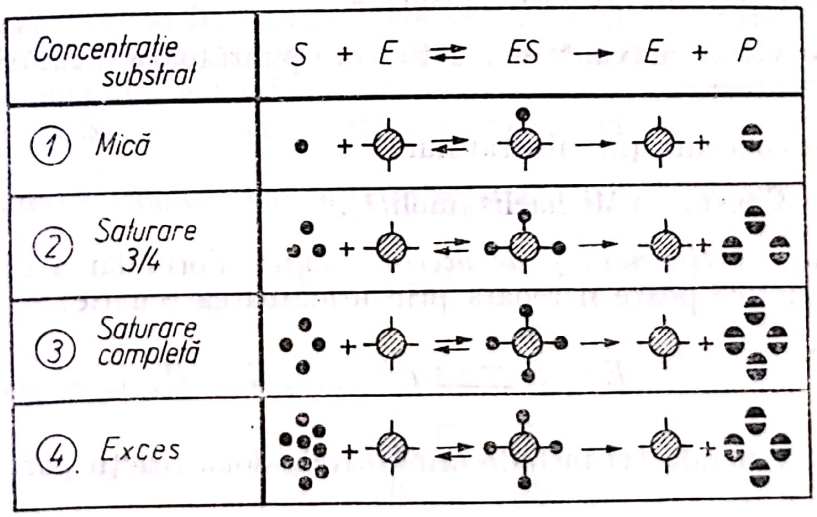


Fig. 5.17. Efectul diferitelor concentrații de substrat asupra capacității enzimelor de legare a substratului.

O reprezentare intuitivă a efectului diferitelor concentrații de substrat asupra capacității moleculelor de enzimă de a lega moleculele de substrat este redată în figura 5.17. Din această reprezentare rezultă că randamentul

de formare a produșilor de reacție este același, atît în condițiile de saturare completă a enzimei cu substrat cît și în exces de substrat.

Cinetica reacției enzimatice reprezentată prin curba hiperbolică tipică indică — după Michaelis și Menten — o tranziție de la o fază dependentă de concentrația substratului (faza I) la o fază independentă de concentrația substratului (faza II). Faza I corespunde la o reacție de ordinul întîi, iar faza a II-a la o reacție de ordinul zero. Corespunzător fazei a II-a, se deduce — din curba respectivă — că pe măsură ce concentrația substratului tinde către infinit, viteza reacției enzimatice tinde către valoarea maximă.

Din analiza curbei, mai rezultă că la o valoare a vitezei de reacție (v) egală cu jumătate din valoarea vitezei maxime de reacție $\left(v = \frac{V_{max}}{2}\right)$ corespunde, pe axa abscisei, o valoare determinată a concentrației substratului denumită K_m *(Constanta Michaelis)*.

Deci, *Constanta Michaelis* (K_m) *reprezintă acea concentrație de substrat pentru care viteza de reacție corespunde la jumătate din viteza maximă de reacție*. Așadar, pentru $v = \frac{V_{max}}{2}$, $K_m = [S]$. Astfel, K_m are valorile unei concentrații, exprimîndu-se în moli/l.

Afinitatea enzimei pentru substrat. Ecuația Michaelis-Menten. Expresia matematică care definește relația cantitativă dintre viteza de reacție enzimatică, concentrația substratului și valoarea K_m și care îndeplinește condițiile unei curbe hiperbolice este *ecuația Michaelis — Menten*:

$$\boxed{v = \frac{V_{max}\,[S]}{K_m + [S]}}$$

în care:

v este viteza de reacție măsurată

V_{max} — viteza maximă de reacție corespunzătoare saturării enzimei cu substrat.

$[S]$ — concentrația substratului

K_m — Constanta Michaelis (moli/l).

Premise experimentale și deducerea ecuației. Formularea generală a une reacții enzimatice poate fi redată prin următoarea ecuație:

$$E + S \rightleftharpoons ES \rightleftharpoons E + P \qquad (1)$$

Reacția generală (1) include următoarele două reacții parțiale:

$$E + S \underset{v_2}{\overset{v_1}{\rightleftharpoons}} ES \qquad (2)$$

$$ES \overset{v_3}{\rightleftharpoons} E + P \qquad (3)$$

Scanned with OKEN Scanner

Sub aspect cinetic, fiecare reacție se caracterizează printr-o viteză de reacție, respectiv printr-o constantă de viteză specifică. Astfel, din ecuațiile (2) și (3) rezultă că

$$v_1 = K_1[E]\,[S], \quad v_2 = K_2\,[ES] \text{ și } v_3 = K_3\,[ES] \tag{4}$$

În evoluția cineticii reacției enzimatice se atinge rapid o stare staționară de echilibru. Condiția stării staționare de echilibru reflectă faptul că viteza de dispariție a substratului este egală cu viteza de formare a produsului de reacție:

$$-\frac{dS}{dt} = +\frac{dP}{dt} \tag{5}$$

Viteza de transformare a substratului este egală cu diferența dintre vitezele de reacție v_1 și v_2 din ecuațiile (2) și (4):

$$-\frac{dS}{dt} = v_1 - v_2 = K_1\,[E][S] - K_2[ES],$$

iar viteza de formare a produsului de reacție (P) este egală cu viteza de reacție v_3 din ecuațiile (3) și (4):

$$\frac{dP}{dt} = v_3 = K_3[ES]. \tag{6}$$

Din ecuația (5) rezultă însă că $v_1 - v_2 = v_3$ sau $K_1[E][S] - K_2\,[ES] = K_3[ES]$, respectiv $K_1[E][S] = [ES]\,(K_2 + K_3)$.

Grupînd termenii acestei ecuații, rezultă:

$$\frac{[E]\;[S]}{[ES]} = \frac{K_2 + K_3}{K_1} = K_m \tag{7}$$

Constanta Michaelis — K_m — reprezintă astfel o constantă de disociere a complexului enzimă-substrat. Dar, concentrația totală a enzimei (E_t) reprezintă suma concentrației enzimei combinate cu substratul în complexul intermediar $[ES]$ și a concentrației enzimei libere $[E]$. Deci: $[E] = [E_t] - [ES]$.

Efectuînd înlocuirile cuvenite în relația (7), se obține:

$$K_m = \frac{[E]\,[S]}{[ES]} = \frac{([E_t] - [ES])\,[S]}{[ES]}$$

Prelucrînd această ecuație rezultă:

$$K_m = \frac{[E_t]\,[S]}{[ES]} - \frac{[ES]\,[S]}{[ES]}$$

$$K_m + [S] = \frac{[E_t]\,[S]}{[ES]}$$

$$[ES] = \frac{[E_t]\,[S]}{K_m + [S]} \tag{8}$$

Scanned with OKEN Scanner

Înlocuind valoarea [ES] din ecuația (8) cu valoarea vitezei de reacție $v\left(\frac{dP}{dt}\right)$ din relația (6), rezultă:

$$v = \frac{K_3[E_t][S]}{K_m + [S]} \tag{9}$$

Viteza de reacție v este proporțională cu concentrația complexului intermediar $[ES]$. Dar, viteza maximă de reacție (V_{max}) va fi atinsă cînd concentrația $[ES]$ devine maximă, deci cînd totalitatea enzimei este combinată cu substratul: $[ES] = [E_t]$.

În această condiție, care exprimă stadiul de saturare a enzimei cu substrat, viteza maximă de reacție (V_{max}) este direct proporțională cu concentrația enzimei totale: $V_{max} = K_3[E_t]$.

Înlocuind această expresie a V_{max} în ecuația (9) se obține *ecuația Michaelis — Menten* sub forma:

$$\boxed{v = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}} \tag{10}$$

Ecuația Michaelis-Menten exprimă *viteza* reacției enzimatice în fiecare moment, viteză care depinde — conform acestei ecuații — de: *concentrația substratului, viteza maximă* de reacție (și implicit de concentrația totală a enzimei combinată cu substratul $[E_t]$) și *constanta Michaelis* (K_m).

Semnificația K_m. Constanta Michaelis (K_m) reprezintă un indicator al *afinității enzimei pentru substrat* și — conform definiției menționate — corespunde unei anumite concentrații de substrat la care complexul intermediar ES este disociat în proporție de 50%, în condițiile în care viteza de reacție reprezintă jumătate din valoarea vitezei maxime de reacție $\left(v = \frac{V_{max}}{2}\right)$. După cum rezultă din curba cineticii reacției enzimatice, K_m reflectă afinitatea enzimei pentru substratul de reacție: *cu cît* K_m *are o valoare mai mare, cu atît afinitatea enzimei pentru substrat este mai scăzută și invers*; așadar, o valoare mare a K_m indică o disociere mai puternică a complexului intermediar (ES) și reciproc.

Astfel, K_m constituie un parametru cinetic operațional care furnizează indicații asupra cineticii unei reacții enzimatice, respectiv a comportării enzimei în raport cu substratul său de reacție. În conformitate cu definiția sa, K_m reprezintă o concentrație de substrat și, în consecință, se exprimă în moli/litru. Acest fapt este demonstrabil, înlocuind în ecuația Michaelis - Menten (10) valoarea vitezei de reacție (v) cu $v = \frac{V_{max}}{2}$, caz în care ecuația Michaelis-Menten devine:

$$\boxed{\frac{V_{max}}{2} = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}}$$

Scanned with OKEN Scanner

Împărțind cu V_{max}, se obține: $\frac{1}{2} = \frac{[S]}{K_m + [S]}$ sau: $K_m + [S] = 2[S]$.

Deci, $K_m = [S]$.

Valorile K_m variază în limite foarte largi, enzimele caracterizîndu-se printr-o anumită valoare K_m, care reflectă afinitatea de legare a substratului de către o enzimă. În figura 5.18, se redau grafic valorile K_m pentru două enzime (E_1 și E_2) la care corespund valori K_m diferite (K_{m_1} și K_{m_2}).

Determinarea experimentală a K_m. Deși $v = f[S]$, evaluarea valorii K_m, utilizînd sistemul de axe de coordonate v și $[S]$, este aproximativă datorită formei hiperbolice a curbei care exprimă cinetica de reacție. Pentru evaluarea mai precisă a K_m s-au elaborat diferite metode grafice prin care cinetica de reacție enzimatică se exprimă sub forma unei drepte. Dintre acestea, *metoda Lineweaver-Burk* are cea mai largă aplicabilitate și se bazează pe exprimarea ecuației Michaelis-Menten într-o altă formă matematică ce corespunde unei drepte.

Astfel, prin multiplicarea ambilor termeni ai ecuației (10) cu V_{max}, prin prelucrarea matematică a ecuației și exprimarea valorii reciproce, ecuația Michaelis-Menten (10) devine:

$$\boxed{\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{max}} \left(\frac{1}{[S]}\right) + \frac{1}{V_{max}}} \qquad (10')$$

Aceasta reprezintă *ecuația Lineweaver-Burk* care, transpusă grafic, are forma unei drepte a cărei ecuație este: $y = ax + b$. În ecuația dreptei, y și x sînt cele două variabile, a reprezentînd panta dreptei, iar b, valoarea punctului de intersecție a dreptei cu ordonata (y).
Prin analogie, aceste valori au în ecuația (10') următoarele semnificații:

$$y = \frac{1}{v}; \quad x = \frac{1}{[S]}; \quad a = \frac{K_m}{V_{max}}; \quad b = \frac{1}{V_{max}}$$

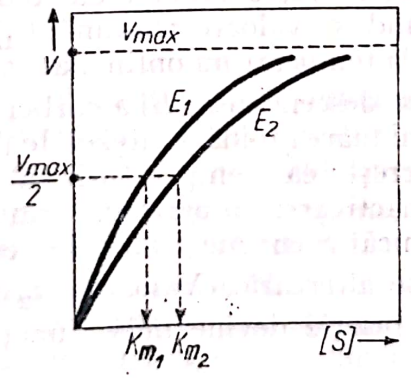


Fig. 5.18. Cinetica de reacție pentru enzimele (E_1 și E_2) la care corespund valori K_m diferite.

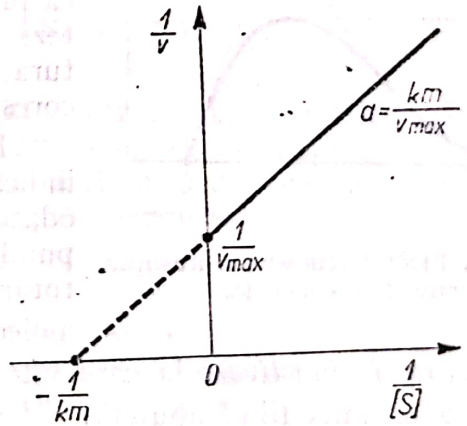


Fig. 5.19. Reprezentarea grafică a ecuației Lineweaver—Burk.

Ecuația Lineweaver-Burk reprezintă astfel o funcție $\frac{1}{v} = f\left(\frac{1}{[S]}\right)$ și are reprezentarea grafică — în sistemul de axe de coordonate $\frac{1}{v}$ și $\frac{1}{[S]}$ —indicată în figura 5.19.

Scanned with OKEN Scanner

Pe baza acestui grafic, K_m poate fi determinată trasînd dreapta Lineweaver-Burk prin măsurarea experimentală a vitezei de reacție $\left(\frac{1}{v}\right)$ corespunzătoare la cel puțin trei valori cunoscute ale concentrației substratului $\left(\frac{1}{[S]}\right)$. Dreapta stabilită experimental intersectează axa $\frac{1}{v}$ în punctul $\frac{1}{V_{max}}$; prin prelungirea ei, dreapta intersectează axa abscisei în punctul $-\frac{1}{K_m}$, obținîndu-se astfel grafic valoarea K_m. Pentru $\frac{1}{v} = 0$, $-\frac{1}{K_m} = \frac{1}{[S]}$. Valoarea K_m poate fi determinată din datele experimentale $\left(\frac{1}{V_{max}}, \frac{1}{v}, \frac{1}{[S]}\right)$ și prin calcularea pantei pentru dreapta obținută: $a = \frac{K_m}{V_{max}}$.

5.8.3.3. EFECTUL TEMPERATURII

Dată fiind natura proteică a enzimelor și deci termolabilitatea lor, activitatea enzimatică se manifestă numai între anumite limite de temperatură, în cadrul acestor limite prezentînd o valoare optimă (maximă). După cum rezultă din figura 5.20, efectul temperaturii asupra vitezei unei reacții enzimatice este rezultanta interacțiunii a doi factori opuși și dependenți de temperatură: a) creșterea vitezei de reacție și b) denaturarea termică a enzimei.

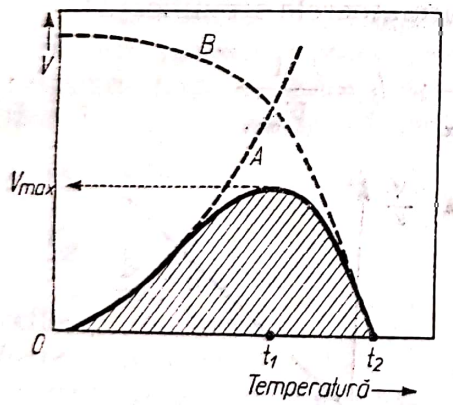


Fig. 5.20. Efectul temperaturii asupra activității enzimelor.

Ramura ascendentă (A) a curbei relevă că pînă la valoarea t_1 (în general, 40°C) viteza de reacție crește regulat cu temperatura, atingînd o valoare maximă (t_1) care corespunde la temperatura optimă a enzimei.

Ramura descendentă (B) a curbei $t_1 \rightarrow t_2$ indică o diminuare rapidă a vitezei de reacție odată cu creșterea temperaturii și corespunde cu inactivarea progresivă prin denaturare termică a enzimei, al cărei edificiu molecular se alterează. Valoarea t_2 indică *temperatura de inactivare* la care viteza de reacție devine nulă, funcția catalitică a enzimei fiind anulată.

În general, activitatea optimă a enzimelor se manifestă în domeniul de temperatură +35°C și +40°C.

5.8.3.4. EFECTUL *p*H-ului

Activitatea enzimelor este dependentă de *p*H-ul mediului în care își exercită acțiunea. Influența *p*H-ului asupra activității enzimelor se repre-

zintă după o curbă în formă de „clopot" al cărei maxim constituie *pH-ul optim* de acțiune a fiecărei enzime (fig. 5.21).

Valoarea optimă de *p*H depinde de natura și originea enzimei, de mediul de reacție și de forța ionică a acestui mediu în care enzima își desfășoară activitatea. De exemplu, *p*H-ul optim al pepsinei este de 2,0—2,5, al ureazei de 6,6, al ribonucleazei de 7,7, al tripsinei de 7,8, al fosfatazei alcaline de 9,0.

Fiind proteine, enzimele se comportă ca *amfoliți*, putînd disocia la nivelul grupărilor $-NH_2$ și $-COOH$ (sau a altor grupări ionizabile) în funcție de valoarea *p*H-ului. Variația *p*H-ului afectează deci caracterul ionic al grupărilor amină și carboxil, influențînd astfel situsul catalitic și conformația moleculei de enzimă. Viteza reacției enzimatice este maximă la *p*H-ul optim, la care enzima are capacitatea deplină pentru a-și exercita funcția catalitică.

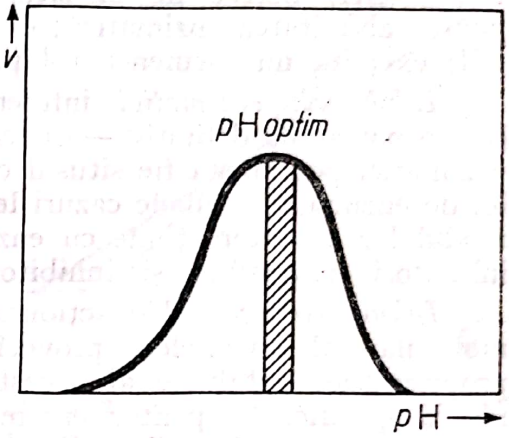


Fig. 5.21. Efectul *p*H-ului asupra activității enzimelor.

5.8.3.5. EFECTUL RADIAȚIILOR IONIZANTE

Structura și respectiv activitatea enzimatică sînt afectate de către radiațiile X și cele radioactive de tip α, β sau γ în anumite doze. Efectul acestor radiații poate fi direct prin producerea ionizării moleculelor de enzimă sau indirect prin producerea ionizării mediului în care se află enzima, cu formarea de radicali liberi. Ambele efecte antrenează inactivarea moleculelor de enzime prin modificări la nivelul structurii lor.

5.8.3.6. EFECTORI ENZIMATICI

Reacțiile enzimatice pot fi influențate, într-un sens sau altul, de către diferite substanțe care acționează direct asupra moleculelor de enzimă. Efectorii enzimatici sînt substanțe de natură chimică diferită care acționează asupra enzimelor modificînd cinetica reacțiilor enzimatice.

După modul lor de acțiune, efectorii enzimatici se clasifică în: activatori, inhibitori și allosterici.

Activatorii enzimatici influențează pozitiv activitatea enzimatică pe care o favorizează sau stimulează. Activatorii enzimatici își pot exercita acțiunea pe diferite căi, în funcție de natura lor. Astfel:

— *diferiți ioni* acționează ca activatori propriu-ziși ai unor enzime; de exemplu, ionii Mg^{2+} sînt activatori ai fosfatazelor, Mn^{2+} și Co^{2+} ai peptidazelor, Zn^{2+} ai alcool dehidrogenazei și ai unor peptidaze, Cl^- ai amilazei etc.;

— *activatori ai unor proenzime* acționează prin înlăturarea anumitor fragmente din molecula sub formă inactivă a unor enzime, transformîndu-le în forma lor activă; de exemplu; enterokinaza transformă tripsinogenul inactiv în forma sa activă tripsina;

Scanned with OKEN Scanner

— *ioni antiinhibitori* acționează înlăturînd efectul inhibitor al altor ioni; de exemplu, efectul inhibitor al ionilor Cu^{2+} asupra ureazei este înlăturat de către ionii CN^-;

— *substanțe cu caracter reducător* acționează prin protejarea grupărilor tiol (—SH) active de la situsul catalitic al enzimelor, grupări necesare pentru activitatea enzimatică; de exemplu, cisteina, glutationul redus (G—SH) exercită un asemenea rol protector.

Inhibitorii enzimatici influențează negativ activitatea enzimatică pe care o pot anula definitiv — ireversibil sau temporar — reversibil. Inhibitorii enzimatici pot afecta fie situsul catalitic, fie oricare altă regiune a moleculei de enzimă, în ambele cazuri legarea substratului fiind influențată. După modul lor de interacțiune cu enzima, inhibitorii enzimatici se clasifică în: inhibitori ireversibili și inhibitori reversibili.

Inhibitorii ireversibili acționează prin modificări profunde ale edificiului molecular al enzimelor, provocînd denaturarea enzimei și deci abolirea proprietăților catalitice ale acesteia; acest tip de inhibitori nu manifestă nici o specificitate pentru enzimă, iar complexul enzimă-inhibitor care se formează este ireversibil, nedisociabil. Prin îndepărtarea inhibitorului ireversibil, enzima nu își mai recapătă funcțiile sale catalitice. Ca inhibitori ireversibili se pot cita: Pb^{2+}, Hg^{2+}, CO, CN^-, azidele, paraclorom ercuribenzoat (PCMB), compuși cu arsen.

Inhibitorii reversibili acționează asupra enzimelor influențînd cinetica de reacție fără însă să inducă modificări la nivelul edificiului molecular al enzimei; prin îndepărtarea lor, enzima își recapătă proprietățile sale catalitice. În funcție de natura și specificitatea inhibitorilor reversibili, inhibiția produsă de aceștia poate fi de tip competitiv, necompetitiv și allosteric.

— *Inhibiția competitivă* este determinată de acțiunea inhibitorilor denumiți *competitivi*. Acești inhibitori sînt substanțe care prezintă o analogie structurală cu substratul și care, în consecință, manifestă o anumită afinitate pentru situsul catalitic. Inhibiția competitivă rezultă astfel dintr-o competiție moleculară între substrat și inhibitorul competitiv pentru ocuparea situsului catalitic. În aceste condiții, enzima (E) poate forma complecși intermediari disociabili atît cu substratul de reacție (S) cît și cu inhibitorul competitiv (I_c): $E + S \rightleftharpoons ES$ și $E + I_c \rightleftharpoons EI_c$. Produsul de reacție ($P$) poate fi însă generat numai de complexul ES: $E + S \rightleftharpoons ES \rightarrow E + P$.

Ca rezultat al inhibiției competitive, formarea complexului EI_c determină, prin blocarea situsurilor catalitice, o reducere a populației de molecule de enzime libere disponibile pentru a reacționa cu substratul; în aceste condiții, proporția moleculelor de substrat care mai pot fi convertite în produsul de reacție se micșorează considerabil. Deci, inhibitorul competitiv se leagă reversibil la situsul catalitic al enzimei și diminuează accesul moleculelor de S; astfel, situsul catalitic nu mai poate acționa asupra substratului pentru a-l transforma în produs de reacție. Inhibiția competitivă poate fi anulată prin creșterea concentrației de substrat, care deplasează astfel inhibitorul competitiv de la situsul catalitic pe care-l ocupă. Inhibitorul competitiv modifică cinetica de reacție, respectiv afinitatea enzimei pentru sub-

Scanned with OKEN Scanner

— *ioni antiinhibitori* acționează înlăturînd efectul inhibitor al altor ioni; de exemplu, efectul inhibitor al ionilor Cu^{2+} asupra ureazei este înlăturat de către ionii CN^-;

— *substanțe cu caracter reducător* acționează prin protejarea grupărilor tiol (—SH) active de la situsul catalitic al enzimelor, grupări necesare pentru activitatea enzimatică; de exemplu, cisteina, glutationul redus (G—SH) exercită un asemenea rol protector.

Inhibitorii enzimatici influențează negativ activitatea enzimatică pe care o pot anula definitiv — ireversibil sau temporar — reversibil. Inhibitorii enzimatici pot afecta fie situsul catalitic, fie oricare altă regiune a moleculei de enzimă, în ambele cazuri legarea substratului fiind influențată. După modul lor de interacțiune cu enzima, inhibitorii enzimatici se clasifică în: inhibitori ireversibili și inhibitori reversibili.

Inhibitorii ireversibili acționează prin modificări profunde ale edificiului molecular al enzimelor, provocînd denaturarea enzimei și deci abolirea proprietăților catalitice ale acesteia; acest tip de inhibitori nu manifestă nici o specificitate pentru enzimă, iar complexul enzimă-inhibitor care se formează este ireversibil, nedisociabil. Prin îndepărtarea inhibitorului ireversibil, enzima nu își mai recapătă funcțiile sale catalitice. Ca inhibitori ireversibili se pot cita: Pb^{2+}, Hg^{2+}, CO, CN^-, azidele, paraclorom ercuribenzoat (PCMB), compuși cu arsen.

Inhibitorii reversibili acționează asupra enzimelor influențînd cinetica de reacție fără însă să inducă modificări la nivelul edificiului molecular al enzimei; prin îndepărtarea lor, enzima își recapătă proprietățile sale catalitice. În funcție de natura și specificitatea inhibitorilor reversibili, inhibiția produsă de aceștia poate fi de tip competitiv, necompetitiv și allosteric.

— *Inhibiția competitivă* este determinată de acțiunea inhibitorilor denumiți *competitivi*. Acești inhibitori sînt substanțe care prezintă o analogie structurală cu substratul și care, în consecință, manifestă o anumită afinitate pentru situsul catalitic. Inhibiția competitivă rezultă astfel dintr-o competiție moleculară între substrat și inhibitorul competitiv pentru ocuparea situsului catalitic. În aceste condiții, enzima (E) poate forma complecși intermediari disociabili atît cu substratul de reacție (S) cît și cu inhibitorul competitiv (I_c): $E + S \rightleftharpoons ES$ și $E + I_c \rightleftharpoons EI_c$. Produsul de reacție ($P$) poate fi însă generat numai de complexul ES: $E + S \rightleftharpoons ES \rightarrow E + P$.

Ca rezultat al inhibiției competitive, formarea complexului EI_c determină, prin blocarea situsurilor catalitice, o reducere a populației de molecule de enzime libere disponibile pentru a reacționa cu substratul; în aceste condiții, proporția moleculelor de substrat care mai pot fi convertite în produsul de reacție se micșorează considerabil. Deci, inhibitorul competitiv se leagă reversibil la situsul catalitic al enzimei și diminuează accesul moleculelor de S; astfel, situsul catalitic nu mai poate acționa asupra substratului pentru a-l transforma în produs de reacție. Inhibiția competitivă poate fi anulată prin creșterea concentrației de substrat, care deplasează astfel inhibitorul competitiv de la situsul catalitic pe care-l ocupă. Inhibitorul competitiv modifică cinetica de reacție, respectiv afinitatea enzimei pentru sub-

Scanned with OKEN Scanner

stratul său și deci valoarea K_m, după cum rezultă din următoarea reprezentare grafică exprimată pe baza ecuației Lineweaver-Burk (fig. 5.22).

Din comportarea cineticii celor două reacții se constată următoarele: în reacția inhibată competitiv (2), valoarea K_m crește ($K_{m_2} > K_{m_1}$) și, de asemenea, panta dreptei respective; valoarea $1/V_{max}$, deci viteza maximă, rămîne neschimbată pentru ambele reacții; deoarece moleculele de inhibitor acționează competitiv cu substratul pentru ocuparea situsului catalitic al enzimei, rezultă că o cantitate mai mare de substrat va fi reclamată pentru semisaturarea enzimei, ceea ce va determina o creștere a K_m.

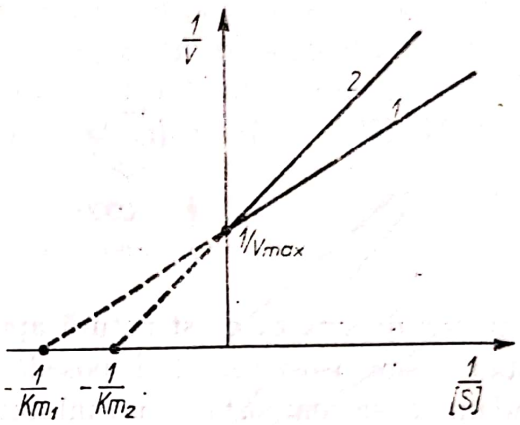
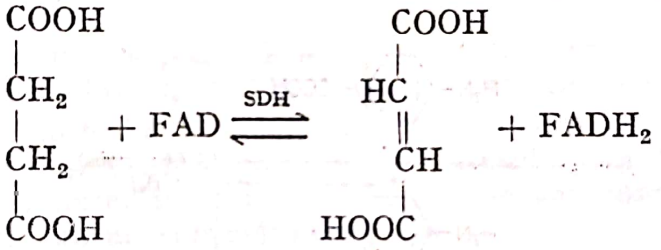


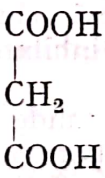
Fig. 5.22. Reprezentarea cineticii de reacție enzimatică în absență (1) și în prezență (2) de inhibitor competitiv.

Exemple de inhibiție competitivă. Enzima *succinat dehidrogenaza* (SDH), care are drept coenzimă FAD, catalizează reacția de conversie a acidului succinic la acid fumaric:



Acid succinic — Acid fumaric

Reacția poate fi inhibată competitiv de către acidul malonic, care prezintă analogie structurală cu acidul succinic, fiind omologul inferiol al acestuia. Acidul malonic reacționează ca un inhibitor competitiv cu substratul enzimei — acidul succinic — pentru ocuparea situsului catalitic ar

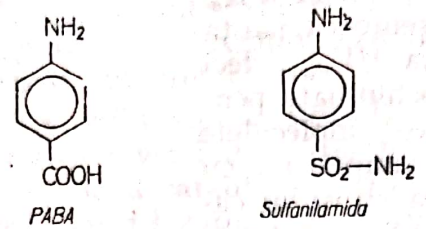


Acid malonic

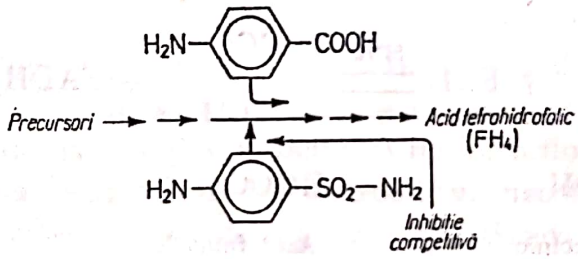
SDH. Accesul și legarea reversibilă a acidului malonic la situsul catalitic al enzimei blochează reacția enzimatică, substratul nemaiputînd fi transformat în produsul de reacție, acidul fumaric.

O serie de substanțe cu acțiune chimioterapică pot acționa ca inhibitori competitivi. De exemplu, sulfonamidele își exercită acțiunea lor bacteriostatică printr-un proces de inhibiție competitivă. Astfel, acidul para-aminobenzoic (PABA) este un component structural al coenzimei denumită acid tetrahidrofolic (FH_4) biosintetizată de către bacterii și care are un rol esențial pentru activitatea unor enzime, ca de exemplu cele care participă

la biosinteza bazelor azotate purinice și pirimidinice ce intră în constituția acizilor nucleici. Totodată, PABA constituie un factor de creștere pentru numeroase bacterii. Sulfanilamida (para-aminofenilsulfonamida) este un



compus de sinteză cu structură apropiată de cea a PABA; aceste două substanțe sînt isostere, deci posedă o configurație spațială analoagă. Sulfanilamida se comportă ca un inhibitor *competitiv* ocupînd la concurență situsul catalitic al enzimelor care, în mod natural, au ca substrat PABA. Prezența în mediu a sulfanilamidei — ca inhibitor competitiv — nu mai permite accesul PABA la situsul catalitic enzimatic și, în aceste condiții, încorporarea PABA în structura coenzimei FH_4 este inhibată, iar biosinteza acesteia este diminuată sau blocată:



Concomitent, în absența producerii acidului folic (sau FH_4), multiplicarea bacteriilor încetează: producerea de acizi nucleici necesari bacteriilor este afectată, deoarece lipsa FH_4 nu mai permite biosinteza nucleotidelor purinice și pirimidinice constituente ale structurii acizilor nucleici. Pe acest mecanism de inhibiție competitivă se bazează *efectul bacteriostatic* al unor substanțe cu acțiune chimioterapică. Prin sinteză chimică au fost obținuți numeroși *antimetaboliți* care se comportă ca inhibitori competitivi cu aplicații terapeutice în special anticanceroase.

Administrarea în exces de sulfonamide devine precară pentru organismul animal, deoarece aceste substanțe pot anihila flora bacteriană intestinală (neinfecțioasă) producătoare de acid folic și deci de FH_4 necesar organismului.

Antibioticul *puromicina* acționează, de asemenea, ca un *inhibitor competitiv* în procesul de biosinteză a proteinelor.

— *Inhibiția necompetitivă* este determinată de acțiunea unor inhibitori (I_n) care nu prezintă analogie structurală cu substratul; aceștia acționează fie asupra enzimei într-o altă regiune a moleculei, diferită de situsul catalitic, formînd un complex inactiv enzimă-inhibitor ($E + I_n \rightleftharpoons EI_n$), fie asupra complexului enzimă-substrat, formînd un complex inactiv enzimă - substrat-inhibitor: $ES + I_n \rightleftharpoons ESI_n$, fie concomitent asupra enzimei și a com-

plexului ES. Ambele complexe la care participă inhibitorul necompetitiv (EI_n și ESI_n) sînt combinații inactive. În comparație cu inhibiția competitivă, în inhibiția necompetitivă se produce o modificare a vitezei maxime de reacție, precum și a valorii K_m, deoarece însăși afinitatea enzimei pentru substrat se modifică. Cinetica de reacție în inhibiția necompetitivă este complet deosebită de cinetica reacției enzimatice fără inhibitor și de cinetica reacției enzimatice în prezența unui inhibitor competitiv (fig. 5.23). Deci,

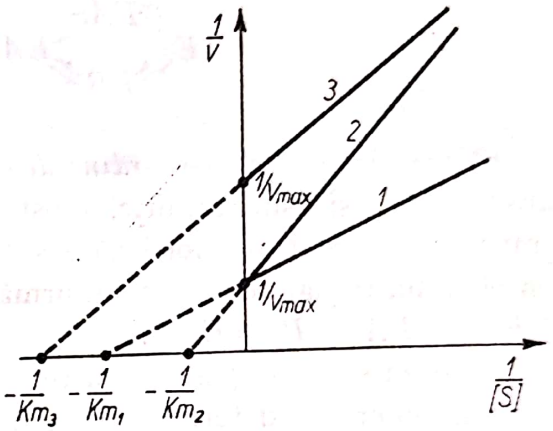


Fig. 5.23. Reprezentarea cineticii de reacție în absența inhibitorului (1), în prezență de inhibitor competitiv (2) și în prezență de inhibitor necompetitiv (3).

inhibiția necompetitivă se poate deosebi pe cale experimentală de inhibiția competitivă prin stabilirea grafică a cineticii de reacție în cele două cazuri.

—*Inhibiția allosterică*. Acest tip de inhibiție este caracteristic pentru enzimele allosterice și implică participarea situsului allosteric care poate lega reversibil un inhibitor denumit allosteric. Mecanismul inhibiției allosterice este prezentat în cadrul subcapitolului 5.9.

5.8.4. CINETICA REACȚIILOR ENZIMATICE ÎN PREZENȚA A DOUĂ SUBSTRATURI

O serie de enzime catalizează reacții în care pot interacționa două sau mai multe substraturi. Astfel, enzimele din clasa *transferaze* catalizează reacții cu două substraturi, transferînd o grupare chimică funcțională de pe un substrat pe alt substrat.

Ecuația unei reacții enzimatice implicînd două substraturi (A și B): $A + B \overset{E}{\rightleftharpoons} P + Q$ prezintă o cinetică mai complexă decît reacția care implică un singur substrat deoarece, în primul caz, se pot forma mai multe complexe binare (EA, EB, EP, EQ) și ternare (EAB, EPQ, EAQ, EPB).

Reacțiile enzimatice cu două substraturi pot fi integrate în următoarele categorii: reacții de simplă deplasare și reacții de dublă deplasare.

5.8.4.1. REACȚII DE SIMPLĂ DEPLASARE

Aceste reacții reclamă prezența concomitentă a ambelor substraturi (A și B) la situsul catalitic al enzimei, formîndu-se un complex ternar EAB necesar desfășurării reacției enzimatice respective. Formarea acestui complex ternar se poate realiza pe două căi:

Scanned with OKEN Scanner

a) prin legarea într-o *ordine întîmplătoare* a fiecăruia din cele două substraturi la situsul catalitic al enzimei:

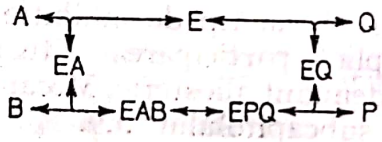
$$E + A \rightleftharpoons EA \qquad E + B \rightleftharpoons EB$$
$$EA + B \rightleftharpoons EAB \quad \text{sau} \quad EB + A \rightleftharpoons EAB$$

Deci,

$$E \rightleftharpoons \begin{matrix} EA \\ EB \end{matrix} \rightleftharpoons EAB \rightarrow E + P + Q$$

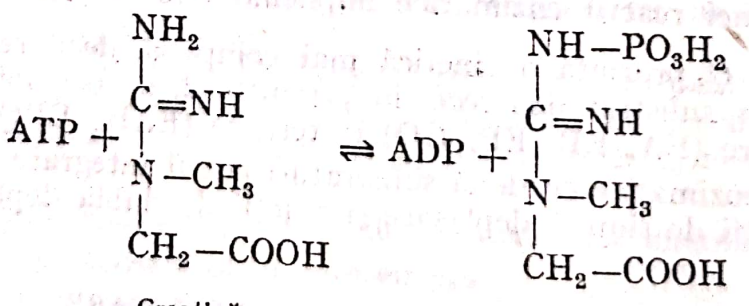
b) prin legarea într-o *ordine determinată, secvențială* numai a unuia din substraturi la situsul catalitic, substrat denumit principal (A); al doilea substrat poate fi legat ulterior legării substratului principal, astfel încît formarea complexului ternar se petrece în următoarea succesiunea de reacții: $E + A \rightleftharpoons EA$ și $EA + B \rightleftharpoons EAB$.

Pe baza schemei generale a reacțiilor care implică două substraturi ce se leagă într-o ordine determinată, rezultă că enzima (E) trebuie să se combine mai întîi cu substratul principal (A) pentru a forma complexul binar (EA):



apoi, se leagă substratul (B) cu formarea complexului ternar (EAB) și eliberarea ulterioară a produșilor de reacție (P și Q).

Ca exemple de reacții de simplă deplasare în care substraturile se leagă într-o ordine întîmplătoare se pot cita cele catalizate de fosfat transferaze. Astfel, creatinkinaza catalizează transferul unei grupări fosfat de pe ATP pe creatină:

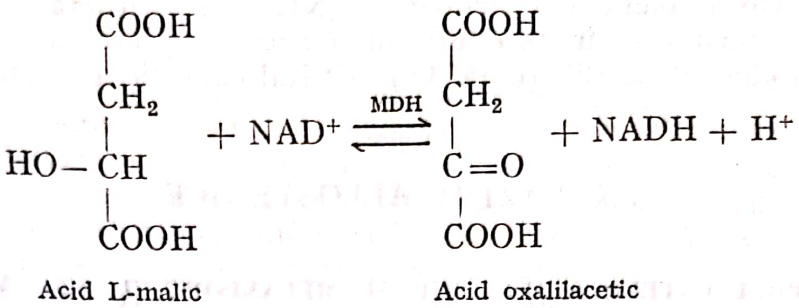


Creatină — Creatinfosfat

Atît ATP cît și creatina se leagă la situsul catalitic într-o ordine arbitrară, necondiționată, pentru a forma complexul ternar.

Ca exemple de reacții de simplă deplasare în care substraturile se leagă la situsul catalitic într-o succesiune determinată, preferențială se pot cita

cele catalizate de dehidrogenaze care au drept coenzimă NAD^+. Astfel, malat-dehidrogenaza (MDH) catalizează reacția:



Acid L-malic — Acid oxalilacetic

Coenzima NAD^+ este legată prima la situsul catalitic al enzimei pentru a forma complexul binar E — NAD^+ la care, ulterior, se leagă malatul (acidul L — malic) ca substrat pentru a forma complexul ternar E — NAD^+ — malat.

5.8.4.2. REACȚII DE DUBLĂ DEPLASARE

Aceste reacții implică, într-o primă etapă, legarea unui substrat (*A*) la situsul catalitic al enzimei (*E*) cu formarea complexului binar *EA* și eliberarea produsului de reacție (*P*); ulterior, se produce legarea celui de al doilea substrat (*B*) și eliberarea celui de al doilea produs(*Q*) de reacție (fig. 5.24). În acest tip de reacții, primul substrat (*A*) induce o modificare chimică a enzimei (*E**) prin transferul unei grupări chimice funcționale; în această formă, enzima (*E**) se combină cu al doilea substrat (*B*) căruia enzima (*E*) îi transferă gruparea chimică funcțională; ulterior, complexul *E*B* se descompune cu formarea produsului *Q* și eliberarea enzimei (*E*). Mecanismul reacțiilor enzimatice de acest tip cu două substraturi și cu evoluție secvențială în două etape poartă denumirea de *mecanism „ping-pong"*.

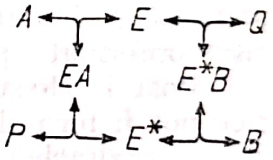
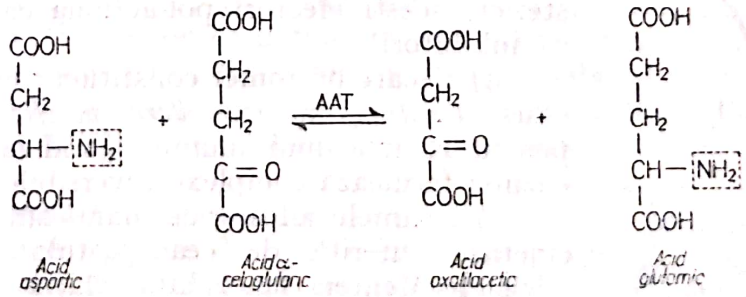


Fig. 5.24. Schema reacției enzimatice de dublă deplasare.

Ca exemplu de reacție bazată pe mecanismul „ping-pong" se poate cita reacția catalizată de enzima aspartat 2-oxoglutarat aminotransferaza (AAT) prin care gruparea $—NH_2$ de pe aspartat este transferată pe α-cetoglutarat cu formarea de oxalilacetat și glutamat:



Acid aspartic — Acid α-cetoglutaric — Acid oxalilacetic — Acid glutamic

Conform cu mecanismul de reacție enunțat, într-o primă etapă substratul principal — aspartatul — se combină cu enzima și astfel devine posibil transferul grupării — NH_2 de pe aspartat pe piridoxal fosfat (derivat al

vitaminei B_6) care funcţionează drept coenzimă a AAT; se formează astfel oxalilacetatul ca prim produs de reacţie; acesta este eliberat de la situsul catalitic al AAT şi înlocuit prin α-cetoglutarat care constituie cel de al doilea substrat. Într-o a doua etapă, gruparea $-NH_2$ este transferată pe α-cetoglutarat care se transformă în produsul de reacţie respectiv şi anume acidul glutamic, produs ce se eliberează de la situsul catalitic al enzimei.

5.9. ENZIME ALLOSTERICE

5.9.1. POSTULATELE STRUCTURII ŞI MECANISMULUI DE ACŢIUNE AL ENZIMELOR ALLOSTERICE

În ansamblul diferitelor mecanisme de reglare şi control metabolic, enzimele allosterice deţin un rol determinant. Prin structura şi funcţiile lor, aceste enzime intervin în reglarea şi controlul diferitelor secvenţe de reacţii a unor căi metabolice, constituind astfel un fenomen natural, necesar în evoluţia proceselor biochimice. Mecanismele de reglare şi control ale diferitelor căi metabolice realizate prin participarea enzimelor allosterice se încadrează în teoria allosterică elaborată de J a c o b, M o n o d, C h a n g e u x. Această teorie se bazează pe interacţiuni sau efecte allosterice, care se manifestă prin procese de activare şi de inhibare însoţite de anumite modificări conformaţionale. Termenul *„allosterism"* desemnează tocmai proprietatea caracteristică a enzimelor allosterice de a funcţiona prin variaţii (*allo-*), în anumite limite, ale conformaţiei lor tridimensionale *(-sterism)*. Efectorul allosteric care se leagă la situsul allosteric modulează anumite *tranziţii* (variaţii) între diferite conformaţii pe care le poate lua molecula de enzimă.

Postulatele structurii şi ale mecanismului de acţiune al enzimelor allosterice pot fi formulate astfel:

a) enzimele allosterice sînt proteine oligomere cu *rol de reglare* constituite dintr-un număr finit de protomeri (subunităţi) identici;

b) în ansamblul molecular constituit din asocierea protomerilor într-o structură cuaternară, protomerii ocupă poziţii echivalente, molecula enzimei allosterice avînd o *structură simetrică* (cel puţin o axă de simetrie);

c) enzimele allosterice posedă mai multe situsuri de legare (cel puţin două) avînd un situs catalitic, la care se leagă substratul şi care este responsabil de activitatea catalitică propriu-zisă, şi un situs secundar denumit *allosteric* la care se leagă selectiv şi reversibil alte substanţe — efectori allosterici; aceşti efectori pot acţiona ca activatori sau ca inhibitori;

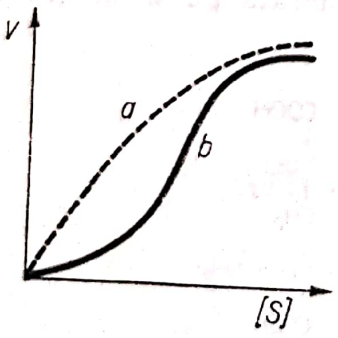


Fig. 5.25. Cinetica enzimatică: *a* — de tip Michaelis-Menten şi *b* — de tip allosteric.

d) fiecare protomer constituent conţine deci un situs *catalitic* şi un situs *stereospecific* complementar pentru legarea unui anumit ligand efector, cu care enzima formează complexe reversibile;

e) enzimele allosterice manifestă o comportare cinetică diferită de cea postulată prin teoria Michaelis-Menten (fig. 5.25); relaţia dintre concentraţia substratului şi viteza de reacţie indică pentru enzimele allosterice o curbă cu un aspect *sigmoid*, spre deosebire de celelalte enzime pentru care curba are un aspect hiperbolic. Aspectul sigmoidal al curbei la enzimele allosterice este atribuit

Scanned with OKEN Scanner

structurii oligomere a acestora, respectiv existenței mai multor situsuri per moleculă între care se manifestă efecte de cooperare;

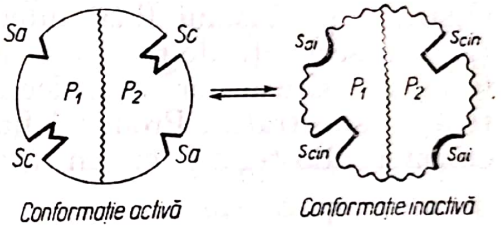
f) Între situsul catalitic și situsul allosteric există anumite *interacțiuni mutuale*, deși legarea efectorului allosteric este independentă de legarea substratului;

g) Legarea reversibilă a efectorului allosteric la situsul allosteric al enzimei induce anumite modificări de tranziție—discrete și reversibile —în conformația tridimensională a moleculei de enzimă care influențează activitatea catalitică a acesteia; tranziția conformațională a moleculei de enzimă allosterică de la o stare conformațională la alta, determinată de legarea efectorului allosteric, se numește *tranziție allosterică*;

h) Molecula enzimei allosterice poate adopta două stări cu conformații diferite aflate în echilibru, care sînt datorate modului de interacțiune a protomerilor constituenți. Conform acestui model (fig. 5.26), fiecare stare conformațională va prezenta proprietăți catalitice diferite și respectiv capacități de legare diferite: *conformația sau starea activă* (relaxată) a enzimei allosterice manifestă o pronunțată activitate catalitică și o capacitate mare de legare a substratului (activatorului), iar *conformația sau starea inactivă* (constrînsă) a enzimei allosterice manifestă o activitate catalitică și o capacitate de legare a substratului (inhibitorului) minime;

Fig. 5.26. Conformația activă și inactivă a enzimei allosterice:

P_1 și P_2 — protomeri; S_c — situsuri catalitice accesibile pentru legarea substratului; S_a — situsuri allosterice accesibile pentru legarea efectorului allosteric activator și inaccesibile pentru efectorul inhibitor; S_{cin}— situsuri catalitice inaccesibile pentru legarea substratului; s_{ai} — situsuri allosterice accesibile pentru legarea efectorului allosteric inhibitor și inaccesibile pentru efectorul activator.



i) Interacțiunile allosterice în prezența efectorilor allosterici stau la baza proceselor de reglare și control ale metabolismului celular prin mecanisme de tip *feed-back*.

5.9.2. MECANISMUL REGLĂRII ACTIVITĂȚII ENZIMATICE PRIN INTERACȚIUNI SAU TRANZIȚII ALLOSTERICE

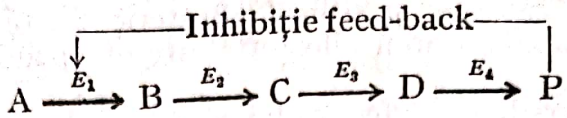
Activitatea metabolică a organismului este rezultanta interacțiunii și interdependenței diferitelor procese de reglare biochimică ce se realizează prin participarea enzimelor. În ansamblul acestor procese, mecanismul de reglare prin tranziții allosterice deține un rol determinant.

Teoria reglării allosterice și modelul de reglare elaborat prezintă o aplicabilitate generală, incluzînd procese de activare și de inhibare. Bazele acestei teorii au fost formulate în corelație cu explicarea mecanismului de *reglare tip feed-back*.

Reglarea feed-back (reglarea prin retroinhibiție sau prin produs final) reprezintă un proces specific de reglare prin care produsul final (P) al unei secvențe constituită din mai multe reacții biochimice înlănțuite și catalizate de enzime diferite (E_1, E_2, E_3, E_4) acționează asupra enzimei allosterice inițiale (E_1) pe care o inhibă. Produsul final (P) se comportă astfel ca un *efector allosteric* (inhibitor); în consecință, el se fixează la situsul allosteric al enzimei allosterice (E_1) care este astfel supusă unei *tranziții allosterice*,

Scanned with OKEN Scanner

tranziție ce are drept efect o diminuare sau anulare temporară a activității catalitice:



În această secvență, în care fiecare reacție este catalizată de o anumită enzimă, prima enzimă (E_1) este o enzimă alosterică cu rol de reglare a întregii secvențe de reacții. Prin acțiunea inhibitoare a produsului final de reacție (P) asupra enzimei (E_1) se poate asigura reglarea activității întregului șir de reacții, în sensul că inhibarea activității enzimei reglatoare E_1 nu mai permite funcționarea succesivă a celorlalte enzime, deoarece substraturile acestora (B, C, D) nu se mai produc. Enzima alosterică, reglatoare este singura enzimă din lanțul metabolic de reacții care este inhibată prin produsul final P, celelalte enzime fiind insensibile la acțiunea acestui produs. Structura moleculară a produsului final diferă fundamental de cea a substratului inițial (A) din secvența de reacții și, în consecință, produsul final P nu acționează la nivelul situsurilor catalitice ale enzimei allosterice prin inhibiție competitivă cu substratul. Produsul final nu exercită deci un efect izosteric asupra enzimei allosterice, ci un *efect allosteric* la nivelul situsurilor allosterice. Rezultă astfel că, produsul final P, acționează ca un efector allosteric dotat cu proprietăți reglatoare și se comportă ca un *semnal biochimic* care, prin intermediul enzimei allosterice, asigură controlul cinetic și funcționarea întregii secvențe de reacții.

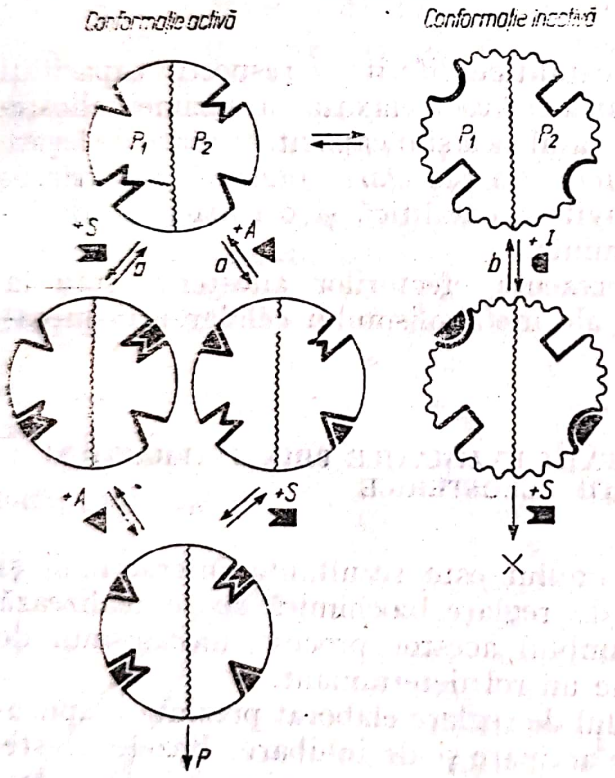


Fig. 5.27. Reglarea enzimatică prin interacțiuni (tranziții) allosterice:

P_1 și P_2, protomeri; S — substrat; A — efector allosteric activator; I — efector allosteric inhibitor; P — produs de reacție; a — tranziție allosterică favorabilă (situs catalitic accesibil substratului); b — tranziție allosterică nefavorabilă (situs catalitic inaccesibil substratului).

Un asemenea proces de reglare feed-back constituie un avantaj considerabil pentru organism în sensul economisirii de produși finali care se formează numai în cantități necesare, controlate, precum și de compuși intermediari (B, C, D) care nu sînt transformați de enzimele respective decît în condițiile impuse de necesitățile metabolice și fiziologice. În acest fel, enzimele allosterice participă efectiv la funcționarea proceselor celulare pe principiul eficienței economice materiale și energetice maxime.

Mecanismul general al reglării enzimatice prin tranziții (interacțiuni) allosterice în prezența efectorilor allosterici — inhibitori și activatori — este reprezentat în figura 5.27. Cele două stări conformaționale — activă și inactivă — ale enzimei allosterice dimere se află în echilibru, fiecare putînd lega preferențial efectori allosterici diferiți (A, I), inclusiv substratul (S). De exemplu,

Scanned with OKEN Scanner

inhibitorul allosteric (I), care se leagă preferențial la forma conformațională inactivă, tinde să deplaseze echilibrul inițial în favoarea formării de molecule de enzimă în conformație inactivă, față de care moleculele în conformație activă există în proporție mai mică. În aceste condiții, accesul substratului la situsul catalitic — care are o configurație sau topografie spațială modificată — nu va fi permis, enzima fiind astfel inoperantă. În mod analog, prezența substratului (*S*) sau a efectorului allosteric (*A*) determină o deplasare a echilibrului spre forma conformațională activă (la ale cărei situsuri complementare se leagă), moleculele de enzimă în această formă devenind predominante; în asemenea condiții, structura spațială a situsului catalitic devine accesibilă pentru legarea substratului și astfel enzima își va exercita funcțiile sale catalitice transformînd substratul în produs (produși) *P* de reacție.

Mecanismul tranzițiilor allosterice, determinante pentru exercitarea funcțiilor de reglare, prevede manifestarea unor *efecte cooperante* datorate existenței în molecula oligomeră a enzimei allosterice a mai multor situsuri catalitice identice (echivalente) și a mai multor situsuri allosterice identice (echivalente), în funcție de numărul protomerilor constituenți. Aceste situsuri, respectiv protomerii asociați în structura cuaternară a moleculei de enzimă allosterică cooperează între ei printr-un efect denumit interacțiune cooperantă a situsurilor catalitice, și respectiv interacțiune cooperantă a situsurilor allosterice, efecte care determină o amplificare a potențialului reactiv. Efectele cooperante se manifestă în corelație cu alt tip de efecte denumite homotrope și heterotrope.

Efectele homotrope se constată în condițiile în care numai un anumit tip de efector se leagă la enzima allosterică. De exemplu, legarea numai a substratului (care poate fi presupus ca un efector allosteric) la situsurile echivalente ale diferiților protomeri constituie un efect homotrop cooperant, în sensul că induce o tranziție favorabilă unei conformații ce mărește activitatea enzimatică. Legarea unei molecule de substrat favorizează legarea unei alte molecule similare, mărind astfel afinitatea situsurilor de legare disponibile.

Efectele heterotrope sînt datorate legării la situsurile enzimei allosterice a mai mult decît a unui singur efector, ca de exemplu, substratul și efectorul activator.

Efectele homotrope sînt de tip cooperant, pe cînd efectele heterotrope pot fi cooperante sau antagoniste, după cum efectorul allosteric este un inhibitor sau un activator.

În concluzie, enzimele allosterice participă la procesele de reglare metabolică în prezența unor semnale intramoleculare și extramoleculare. Mecanismul reglării allosterice se manifestă prin efecte de inhibare sau de activare a activităților enzimatice aferente unui set de reacții caracteristice diferitelor căi metabolice, controlînd astfel dinamica biochimică a metabolismului celular. Această capacitate de *autoreglare* conferă organismului o eficiență deosebită, celula funcționînd ca un *„computer molecular"* dotat cu performanțe excepționale.

5.10. EXPRIMAREA CANTITATIVĂ A ACTIVITĂȚII ENZIMATICE

Dozarea activității enzimelor se bazează pe proprietatea lor de a cataliza o anumită reacție caracterizată printr-o anumită viteză. Viteza de reacție enzimatică este proporțională cu cantitatea de enzimă în condițiile unor para-

Scanned with OKEN Scanner

metri experimentali riguros stabiliți: *p*H și temperatură optime, concentrație suficientă de substrat, coenzime, activatori enzimatici, absența inhibitorilor enzimatici. În principiu, determinarea activității enzimatice se poate efectua pe diferite căi experimentale ca: a) *Măsurarea gradului de transformare a substratului* prin stabilirea scăderii concentrației acestuia într-un anumit interval de timp; b) *Măsurarea concentrației produsului de reacție* format într-un anumit interval de timp: c) *Măsurarea cineticii de reacție*, urmărind în timp viteza de transformare a substratului sau de formare a produsului de reacție.

Pentru exprimarea cantitativă a activității enzimatice se utilizează următoarele mărimi care se definesc astfel:

— *Unitatea de activitate enzimatică* (*U*) reprezintă cantitatea de enzimă ce catalizează transformarea a 1 micromol (1 μM) de substrat/min/1 în condiții experimentale definite. În mod curent, activitatea enzimatică se exprimă și ca miliunități per mililitru (mU/ml).

— *Activitatea enzimatică specifică* reprezintă numărul de unități enzimatice raportate la un miligram de proteină (U/mg).

— *Activitatea enzimatică moleculară* reprezintă numărul de molecule de substrat transformate de către o moleculă de enzimă în timp de un minut.

5.11. CLASIFICAREA ȘI NOMENCLATURA ENZIMELOR

Actuala clasificare și nomenclatură a enzimelor este întocmită pe principiile și regulile stabilite de către *Comisia de enzime a Uniunii Internaționale de Biochimie* (IUB). În conformitate cu recomandările acestei comisii, clasificarea enzimelor se bazează pe un *sistem numeric codificat*, criteriul esențial de clasificare constituindu-l tipul de reacție chimică catalizată de o anumită enzimă. În sistemul de clasificare, identitatea fiecărei enzime este stabilită printr-un *număr de ordine* și un *nume sistematic*.

Numărul de ordine codifică o anumită enzimă și este constituit din patru cifre cu următoarea semnificație:

— *Prima cifră* indică *clasa* la care aparține o enzimă. În funcție de tipul general al reacțiilor chimice pe care le catalizează, enzimele se clasifică în *șase clase*, și anume:

1. *Oxidoreductaze*
2. *Transferaze*
3. *Hidrolaze*
4. *Liaze*
5. *Izomeraze*
6. *Ligaze* (Sintetaze)

Fiecare clasă, la rîndul ei, se subdivide în subclase și sub-subclase.

— *A doua cifră* indică *subclasa*, furnizînd unele precizări referitoare la natura grupărilor chimice ale substratului sau a legăturilor chimice asupra cărora acționează enzima. De exemplu: *subclasa 1* din Clasa 1. Oxidoreductaze grupează acele oxidoreductaze care acționează asupra grupării $\rangle$CH—OH a substratului; *subclasa 2* include acele oxidoreductaze care acționează asupra grupărilor aldehidă sau cetonă etc.; *subclasa 1.* din Clasa 2. Transferaze grupează acele transferaze care participă la transferul grupărilor cu un singur atom de carbon; *subclasa 3.* include transferazele care participă la transferul grupărilor acil (aciltransferaze) etc.; *subclasa 1.* din Clasa 3. Hidrolaze cuprinde acele hidrolaze care acționează asupra legăturilor ester etc. (tabelul 5—5).

Tabelul 5—5

Clasificarea enzimelor (Extras orientativ)

Clasa 1 — OXIDOREDUCTAZE

Subclasa 1.1. — oxidoreductaze care acționează asupra grupării $>CH-OH$

Sub-subclasa 1.1.1 — cu NAD^+ ca acceptor
Sub-subclasa 1.1.2 — cu O_2 ca acceptor etc.
Subclasa 1.2. — oxidoreductaze care acționează asupra grupării aldehidă sau cetonă
Sub-subclasa 1.2.1 — cu NAD^+ sau $NADP^+$ ca acceptor
Sub-subclasa 1.2.2. — cu citocromi ca acceptori
Sub-subclasa 1.2.3 — cu O_2 ca acceptor etc.

Subclasa 1.3. — oxidoreductaze care acționează asupra grupării $>CH-CH<$

Sub-subclasa 1.3.1 — Cu NAD^+ sau $NADP^+$ cu acceptor
Sub-subclasa 1.3.2 — cu citocromi ca acceptori
Sub-subclasa 1.3.3 — cu O_2 ca acceptor etc.

Subclasa 1.4 — oxidoreductaze care acționează asupra grupării $>CH-NH_2$

Sub-subclasa 1.4.1 — cu NAD^+ sau $NADP^+$ ca acceptor
. . . . . .
Sub-subclasa 1.4.3 — cu O_2 ca acceptor etc.
Subclasa 1.10. — oxidoreductaze care acționează asupra H_2O_2 ca acceptor

Clasa 2 — TRANSFERAZE

Subclasa 2.1. — transfer de grupări cu 1 atom de carbon (C_1)
Sub-subclasa 2.1.1 — metiltransferaze
Sub-subclasa 2.1.2 — hidrometiltransferaze, formiltransferaze
Sub-subclasa 2.1.3 — carboxiltransferaze, carbamoiltransferaze etc.
Subclasa 2.3. — transfer de grupări acil (aciltransferaze)
Sub-subclasa 2.3.1 — acetiltransferaze
Sub-subclasa 2.3.2 — aminoaciltransferaze
Subclasa 2.6. — transfer de grupări cu azot
Sub-subclasa 2.6.1 — aminotransferaze
Sub-subclasa 2.6.2 — amidintransferaze etc.
Subclasa 2.8. — transfer de grupări cu sulf
Sub-subclasa 2.8.1 — sulftransferaze
. . . . . .
Sub-subclasa 2.8.3 — CoA-transferaze etc.

Clasa 3 — HIDROLAZE

Subclasa 3.1. — hidrolaze care scindează legăturile ester
Sub-subclasa 3.1.1 — carboxil ester hidrolaze
. . . . . .
Sub-subclasa 3.1.3 — fosfomonoesteraze
Sub-subclasa 3.1.4 — fosfodiesteraze etc.
Subclasa 3.2 — hidrolaze care scindează compușii glicozidici
Sub-subclasa 3.2.1 — glicozilhidrolaze (glicozidaze)
Sub-subclasa 3.2.2 -N-glicozidaze etc.
Subclasa 3.4. — hidrolaze care scindează legăturile peptidice (peptidhidrolaze)
Sub-subclasa 3.4.1 — aminoacilpeptidhidrolaze (aminopeptidaze)
Sub-subclasa 3.4.2 — carboxiaminoacilpeptidhidrolaze (carboxipeptidaze)
. . . . . .
Sub-subclasa 3.4.4 — peptidilpeptidohidrolaze (endopeptidaze) etc.

Clasa 4 — LIAZE

Subclasa 4.1. — liaze C—C
Sub-subclasa 4.1.1 — carboxiliaze
Sub-subclasa 4.1.2 — aldehidliaze etc.
Subclasa 4.2. — liaze C—O
Sub-subclasa 4.2.1 — hidroliaze etc.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 5—5—continuare

Subclasa 4.3. — liaze C—N
Sub-subclasa 4.3.1 — amoniacliaze etc.
Subclasa 4.4. — liaze C—S

Clasa 5 — IZOMERAZE

Subclasa 5.1 — racemaze și epimeraze
. . . . . .
Subclasa 5.2 — izomeraze cis-trans
. . . . . .
Subclasa 5.3 — oxidoreductaze intramoleculare
Sub-subclasa 5.3.1 — transformare reversibilă aldoze-cetoze
Sub-subclasa 5.3.2 — transformare ceto-enol etc.
Subclasa 5.4. — transferaze intramoleculare
. . . . . .

Clasa 6 — LIGAZE

Subclasa 6.1. — formarea legăturilor C—O
Sub-subclasa 6.1.1 — aminoacid·ARN ligaze etc.
. . . . . .
Subclasa 6.3. — formarea legăturilor C—N
. . . . . .
Subclasa 6.4. — formarea legăturilor C—C
Sub-subclasa 6.4.1 — carboxilaze (grefarea CO_2)
6.4.1.1: piruvat — CO_2 ligaza
6.4.1.2: acetil — CoA carboxilaza etc.

— *A treia cifră* indică *sub-subclasa* sau subdiviziunile din cadrul unei subclase și furnizează detalii suplimentare asupra reacției catalizate de o anumită enzimă, completînd astfel indicațiile generale stabilite prin numărul clasei și al subclasei. De exemplu: *sub-subclasa 1.* din Clasa 1. Oxidoreductaze, subclasa 1. grupează acele oxidoreductaze care au ca acceptor de hidrogen NAD^+ sau $NADP^+$; *sub-subclasa 2* pe cele care au citocromi ca acceptori etc.; *subsubclasa 1* din Clasa 2. Transferaze, subclasa 1. cuprinde acele transferaze care transferă grupări metil (metiltransferaze), *sub-subclasa 2* pe cele care transferă gruparea hidrometil și gruparea formil etc. (tabelul 5.5.).

— *A patra cifră* indică poziția (număr de ordine) pe care o deține enzima în subdiviziunea din cadrul subclasei respective. De exemplu, enzima cu denumirea uzuală lactat dehidrogenaza care aparține Clasei 1., subclasa 1., subsubclasa 1 are poziția 27 și deci se codifică: 1.1.1.27.

Numele sistematic indică natura substratului (donatorului), natura acceptorului și tipul de reacție catalizată de enzimă, completînd astfel cadrul numeric de clasificare pe care-l deține enzima respectivă. De exemplu, enzima lactat dehidrogenaza din Clasa 1 are numele sistematic L-lactat: NAD^+ oxidoreductaza, enzima cu denumirea uzuală glucozo-6-fosfataza are numele sistematic glucozo-6-fosfat fosfohidrolaza etc. Denumirea științifică a fiecărei enzime include astfel numele substratului asupra căruia acționează enzima, termenul care precizează tipul de reacție catalizată din clasa sau subclasa la care aparține și sufixul -„ază".

Pe baza recomandărilor de clasificare și nomenclatură, enzimele se clasifică și se denumesc în funcție de criterii științifice precise. Fiecare enzimă posedă astfel un *cod* reprezentat prin cele patru cifre care stabilește amplasarea în sistemul internațional de clasificare, cod care este precedat de abrevierea EC. („Enzyme Comission") și care precede numele sistematic al enzimei. Astfel, codul enzimei EC.1.1.1.27 indică faptul că aceasta face parte

Scanned with OKEN Scanner

din Clasa 1 (Oxidoreductaze), subclasa 1 (enzima acționează asupra grupării >CH—OH a substratului), sub-subclasa 1 (enzima are ca acceptor de hidrogen coenzima NAD^+), avînd poziția 27 în subclasa 1. În consecință, enzima luată ca exemplu este codificată astfel: *EC.1.1.1.27 L-lactat: NAD^+ oxidoreductaza.*

Un extras orientativ referitor la clasificarea enzimelor este prezentat în tabelul 5—5.

În terminologia enzimologică, pe lîngă denumirea științifică impusă prin sistemul de clasificare internațională, se utilizează încă pentru diferitele enzime denumiri empirice, comune, uzuale consacrate printr-o folosire îndelungată, înaintea introducerii sistemului actual de clasificare. Astfel, denumirea multor enzime rezultă prin adăugarea sufixului *-ază* la numele substratului asupra căruia acționează enzima. De exemplu, enzima *maltaza* are ca substrat diglucidul maltoza, *ureaza* are ca substrat ureea etc. Pentru alte enzime, denumirea comună derivă de la tipul de reacție catalizată prin adăugarea sufixului-ază. De exemplu, o enzimă care catalizează o reacție de oxidare are denumirea comună de oxidază; o enzimă care catalizează oxidarea unui substrat prin dehidrogenare are denumirea comună de dehidrogenază etc. În fine, pentru alte enzime se utilizează denumiri comune absolut empirice, ca de exemplu enzimele proteolitice (pepsina, tripsina, chimotripsina)din tractul gastro-intestinal.

Deși aceste denumiri comune de enzime sînt mai puțin științifice și semantic imperfecte, totuși ele fac parte încă din terminologia de rutină a enzimologiei, fiind folosite în paralel cu denumirile științifice stabilite prin sistemul actual de clasificare. Folosirea denumirilor comune ale unor enzime poate prezenta însă o anumită valoare didactică, motiv pentru care ele vor fi utilizate, după caz, în acest manual.

5.12. DESCRIEREA, CARACTERIZAREA ȘI MECANISMUL DE REACȚIE ALE UNOR ENZIME

5.12.1. OXIDOREDUCTAZE

Reprezintă clasa de enzime care *catalizează reacții de oxidare și de reducere* (redox)* caracterizate prin transfer de hidrogen (transhidrogenaze sau dehidrogenaze), prin transfer de electroni (transelectronaze) sau prin combinarea unui substrat cu oxigenul molecular (oxidaze).

Oxidoreductazele își exercită acțiunea lor catalitică în prezența unor coenzime diferite: nicotinamidadenin dinucleotidice, flavinice, hematinice etc., coenzime care se comportă ca acceptori intermediari între substratul inițial de reacție și acceptorul final.

5.12.1.1. OXIDOREDUCTAZE CU NAD^+ SAU $NADP^+$ DREPT COENZIME

Aceste enzime denumite generic *dehidrogenaze* (transhidrogenaze) catalizează reacții de oxidoreducere prin transfer, în general reversibil, de hidro-

* Caracterizarea și semnificația acestor reacții sînt prezentate în capitolul 9. Bioenergetică.

Scanned with OKEN Scanner

gen de pe un donator pe un acceptor, respectiv de la un substrat la altul. Ele au un caracter anaerob deoarece, acceptorul de hidrogen transferat este altul decît oxigenul.

Coenzimele acestor dehidrogenaze sînt: *N*icotinamid *A*denin *D*inucleotid oxidat (NAD^+) sau redus (NADH) și *N*icotinamid *A*denin *D*inucleotid *P*hosfat oxidat ($NADP^+$) sau redus (NADPH). Aceste coenzime, constituite dintr-un derivat al vitaminei PP — nicotinamida — și un nucleotid derivat de la adenină, prezintă structurile redate în figura 5.28.

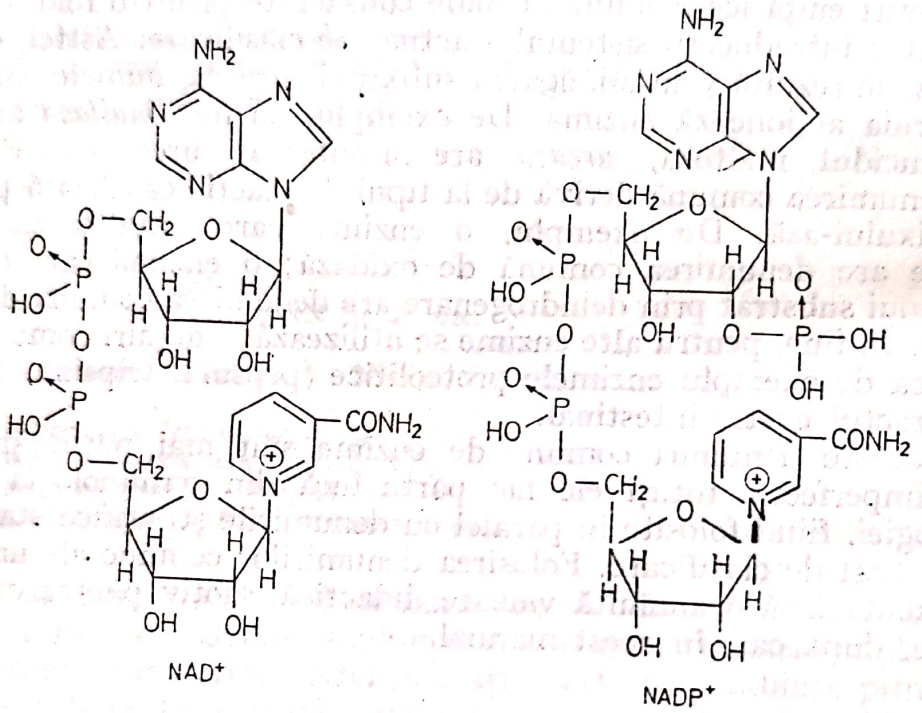


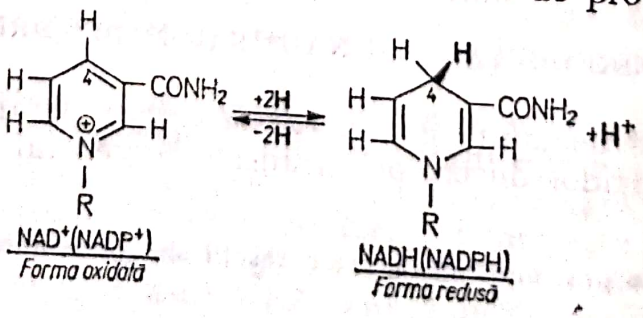
Fig. 5.28. Structura NAD^+ și a $NADP^+$.

Reacțiile generale de oxidoreducere catalizate de dehidrogenaze prin intermediul acestor coenzime pot fi reprezentate astfel:

$$\underset{(S-H_2)}{\text{Substrat redus}} + NAD^+ \rightleftharpoons \underset{(S)}{\text{substrat oxidat}} + NADH + H^+$$

$$\underset{(S-H_2)}{\text{Substrat redus}} + NADP^+ \rightleftharpoons \underset{(S)}{\text{substrat oxidat}} + NADPH + H^+$$

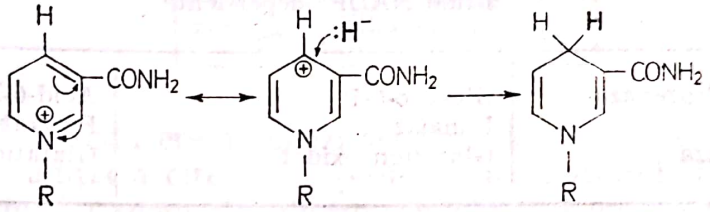
Mecanismul de transfer reversibil al H de pe donator (substrat redus) implică participarea ciclului piridinic al nicotinamidei care acceptă tranzitoriu un atom de H, transformîndu-se în formă chinonică; celălalt H de pe substrat este eliberat în mediul celular sub forma de proton (H^+):



sau

$$NAD^+(NADP^+) \underset{-2H}{\overset{+2H}{\rightleftharpoons}} NADH\ (NADPH) + H^+$$

Mecanismul redat prin formulele de structură menționate necesită adiția unui ion hidrură H^- (atom de H cu un electron adițional) în poziția 4 a ciclului piridinic din NAD^+ (oxidat). Admițînd structurile de rezonanță ale NAD^+ (oxidat), în care pe lîngă structura ce posedă atomul N cu sarcină pozitivă există și structura ce posedă atomul C din poziția 4 cu sarcină pozitivă, adiția ionului H^- (posedînd 2 electroni) se petrece astfel:



Protonul (H^+) necesar pentru a echilibra reacția — cînd ionul hidrură (H^-) este detașat din molecula substratului — se eliberează ca atare în mediul de reacție.

Formele coenzimelor oxidate (NAD^+ sau $NADP^+$) și reduse (NADH sau NADPH) se pot evidenția prin spectrul lor în ultraviolet, forma redusă (NADH sau NADPH) prezentînd un maxim de absorbție la $\lambda = 340$ nm (fig. 5.29). Reducerea în cursul reacției a coenzimei oxidate poate fi urmărită astfel spectrofotometric prin măsurarea modificării absorbției la $\lambda = 340$ nm.

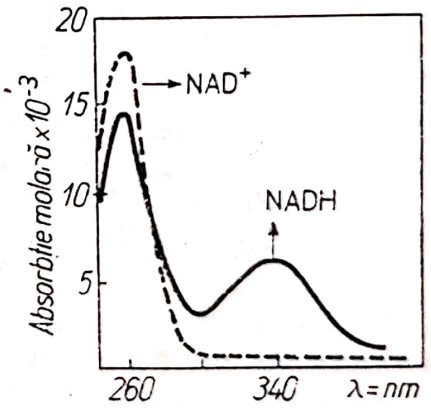


Fig. 5.29. Spectrul de absorbție al coenzimelor NAD^+ și NADH.

Funcția de transportori de hidrogen a NAD^+ și $NADP^+$ se realizează prin mobilitatea lor, putîndu-se detașa de pe apoenzimă pentru a vehicula H captat. Oxidoreductazele NAD^+-dependente intervin în procese metabolice oxidative (ciclul Krebs, catena de oxidare celulară, glicoliza aerobă), iar cele $NADP^+$-dependente în procesele reductive de sinteză (biosinteza extramitocondrială a acizilor grași, steroizilor etc.) și în șuntul hexozomonofosfat. De asemenea, oxidoreductazele NAD^+- și $NADP^+$-dependente intervin în oxidarea diferitelor substraturi ca alcooli, aldehide, aminoacizi. Oxidoreductazele NAD^+- și $NADP^+$-dependente prezintă o largă distribuție în diferite țesuturi, catalizînd reacții în care intervin diverse substraturi. Unele exemple sînt redate în tabelul 5—6.

Scanned with OKEN Scanner

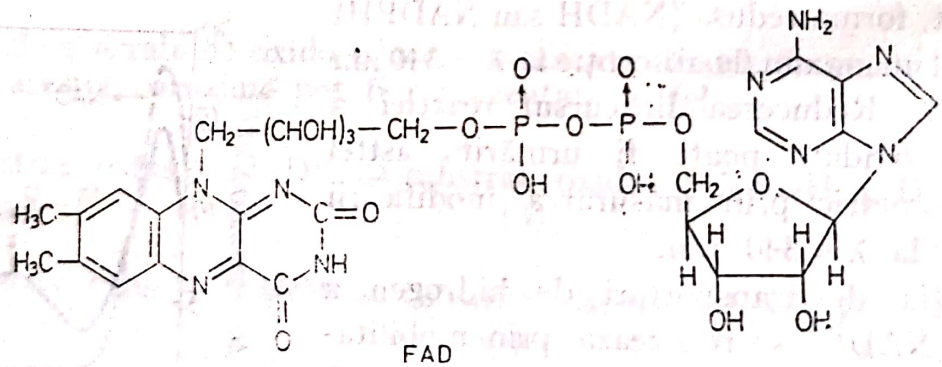
Tabelul 5—6

Exemple de oxidoreductaze NAD⁺ și NADP⁺-dependente.

Enzima	Substrat	Produs
Enzime NAD⁺-dependente		
Alcooldehidrogenaza	Alcool	Acetaldehidă
Lactatdehidrogenaza	Lactat	Piruvat
Malatdehidrogenaza	L-malat	Acid oxalilacetic
Glicerolfosfat dehidrogenaza	Glicerol-3-P	Dihidroxiaceton-P
Gliceraldehid-3-P dehidrogenaza	Gliceraldehid-3-P + H_3PO_4	Acid-1,3-difosfogliceric
Nitratreductaza	Nitrat	Nitrit
Enzime NADP⁺-dependente		
Glucozo-6-P-dehidrogenaza	Glucozo-6-P	Acid-6-P-gluconic
Malic enzima	L-malat	Piruvat + CO_2
Glutation reductaza	Glutation oxidat	Glutation redus

5.12.1.2. OXIDOREDUCTAZE CU FAD SAU FMN DREPT COENZIME (FLAVINENZIME)

Flavinenzimele catalizează reacții de oxidoreducere prin transfer de hidrogen de pe un donator pe un acceptor, funcție pe care le-o conferă natura coenzimei prin intermediul căreia acționează.



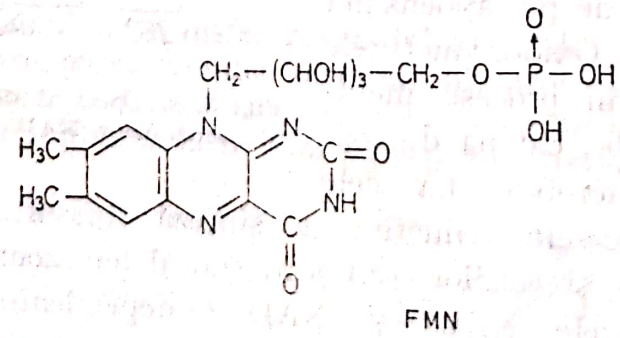


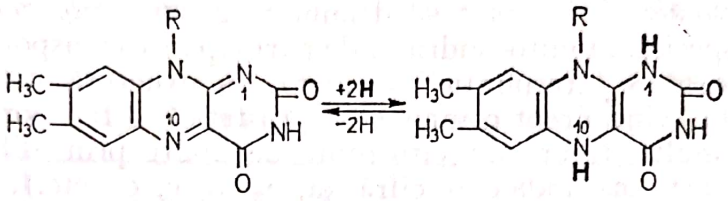
Fig. 5.30. Structura FAD și a FMN.

Coenzimele flavinenzimelor sînt: *F*lavin *A*denin *D*inucleotid oxidat (FAD) sau redus ($FADH_2$) și *F*lavin *M*ono *N*ucleotid oxidat (FMN) sau redus ($FMNH_2$).

Scanned with OKEN Scanner

Aceste coenzime sînt derivați ai riboflavinei (vitamina B_2) și prezintă structurile indicate în figura 5.30.

Funcția de transfer reversibil a 2 atomi H (2 protoni + 2 electroni) de către flavinenzime se realizează prin adiția și cedarea H la nivelul sistemului de duble legături conjugate la care participă atomii N din pozițiile 1 și 10 ale ciclului izoaloxazinic, conform următoarei reacții de oxidoreducere:

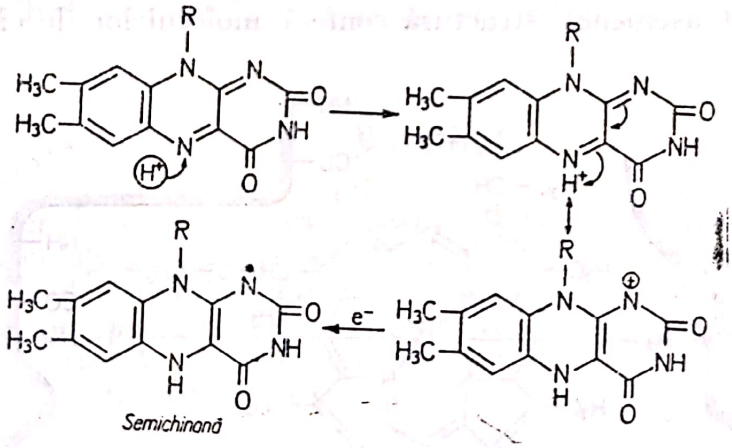


FAD(FMN) (Forma oxidată) $\rightleftharpoons$ $FADH_2(FMNH_2)$ (Forma redusă)

sau

$$FAD(FMN) \underset{-2H}{\overset{+2H}{\rightleftharpoons}} FADH_2(FMNH_2)$$

Mecanismul de reducere a coenzimei flavinice se petrece în două etape, fiecare implicînd adiția a cîte unui proton cu electronul său; se formează un produs intermediar semiredus de tip semichinonă (cu un electron neîmperecheat) care poate exista în diferite forme de rezonanță:



Semichinonă

Deoarece unele flavinenzime conțin în molecula lor și un metal (Mo, Fe), acesta poate stabiliza forma semichinonă prin împerecherea electronului celibatar cu electroni neîmperecheați existenți în ionii metalici. Metalul conferă, totodată, flavinenzimelor respective și funcția de a transporta electroni.

Coenzimele FAD și FMN sînt strîns asociate cu molecula de apoenzimă, spre deosebire de coenzimele NAD^+ și $NADP^+$ care se pot detașa de apoenzimă. Unele flavinenzime acționează ca dehidrogenaze anaerobe, pe cînd altele au un caracter aerob putînd transfera H de la substrat (A) la oxigenul molecular cu formare de apă oxigenată: $AH_2 + FAD \rightleftharpoons A + FADH_2$; $FADH_2 + O_2 \rightarrow FAD + H_2O_2$. Coenzimele FAD participă în catena de oxidare celulară, fiind situate între $NADH_2$ (de pe care acceptă H) și transelectronaze (citocromi):

$$\text{Substrat redus } (H_2) \longrightarrow NADH_2 \longrightarrow FADH_2 \xrightarrow[\downarrow 2H^+]{2e^-} \text{transelectronaze.}$$

Scanned with OKEN Scanner

Sub această denumire se desemnează enzimele care catalizează reacții de oxidoreducere prin *transfer de electroni* de pe un donator pe un acceptor. În funcție de natura acceptorului, transelectronazele pot fi: anaerobe, caz în care acceptorul de electroni nu este oxigenul și aerobe, caz în care acceptorul de electroni este oxigenul.

Transelectronazele anaerobe se denumesc generic *citocromi*. Aceștia sînt localizați, în special, în mitocondrii unde participă ca transportori de electroni în catena de oxidare („respirație") celulară. Ca structură, citocromii sînt proteine conjugate avînd drept componentă prostetică o fier-porfirină. S-au evidențiat mai multe tipuri de citocromi denumiți prin diferite litere sau litere care poartă ca indice o cifră (a, a_3, b, c, c_1 etc.); deși manifestă aceeași funcție de transportori de electroni, se diferențiază totuși între ei prin anumite detalii structurale (natura catenelor laterale atașate la nucleul porfirinic, componenta proteică), prin potențialul lor redox și prin spectrele lor de absorbție caracteristice.

De exemplu, în structura citocromului *c* componenta prostetică derivă de la hem, fiind legată de componenta proteică prin două legături tioeter stabilite între grupările vinil (pozițiile 2 și 4 din hem) și doi radicali de cisteină care aparțin structurii componentei proteice; de asemenea, este posibilă stabilirea de legături coordinative între fierul din nucleul porfirinic și ciclul imidazol din radicali de histidină aparținînd componentei proteice (fig. 5.31). O asemenea structură conferă moleculelor de citocromi o mare

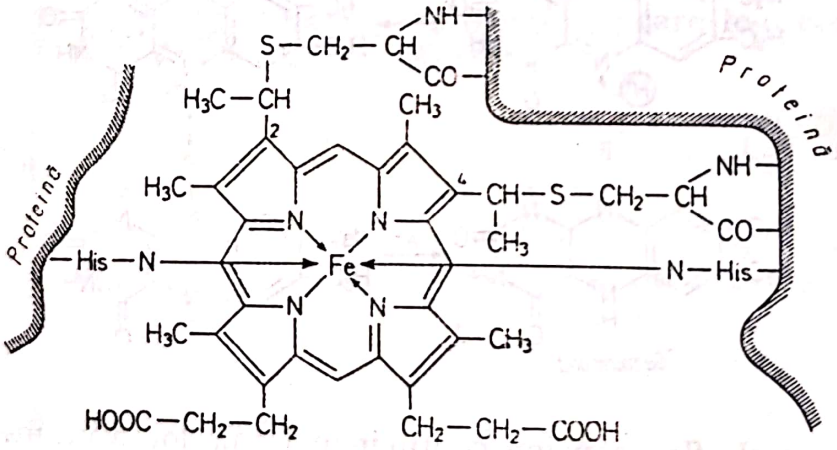


Fig. 5.31. Structura citocromului *c*.

stabilitate, nucleul porfirinic deținînd o poziție specială în configurația de ansamblu a edificiului molecular, poziție prin care fierul devine protejat față de acțiunea diferiților agenți care ar putea afecta funcționalitatea moleculei.

Citocromii acționează ca *sisteme de oxidoreducere*, funcția lor de transfer a electronilor exercitîndu-se la nivelul fierului care are capacitatea de a se reduce și oxida alternativ:

$$\underset{\text{Forma redusă}}{\text{cit}(Fe^{2+})} \underset{+e^-}{\overset{-e^-}{\rightleftharpoons}} \underset{\text{Forma oxidată}}{\text{cit}(Fe^{3+})}$$

Scanned with OKEN Scanner

Ca transportori de electroni, citocromii deţin un rol determinant în catena de oxidare celulară, participînd ca intermediari în procesul de combinare a H—provenit din diferite substraturi —cu $^1/_2O_2$ pentru a forma H_2O, proces prin care energia eliberată din oxidarea H este stocată în moleculele de ATP ce se biosintetizează. În mitocondrii, electronii eliberaţi prin protonizarea H sînt transferaţi succesiv printr-o secvenţă de diferite tipuri de citocromi — *b*, c_1, *c*, *a*, a_3 — dispuşi în această ordine pe baza potenţialului lor redox. În tabelul 5—7 sînt redate caracteristicile unor citocromi.

Tabelul 5—7

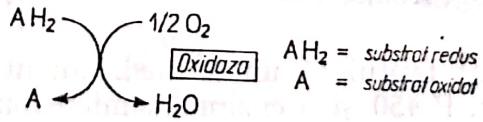
Caracteristicile unor citocromi

Citocromi	Redus de:	Oxidat de:	Potenţial redox (*v*)	Absorbţie (nm)
cit. *b*	coenzima Q_{10}	cit. c_1	+0,05	563
cit. c_1	cit. *b*	cit. *c*	+0,23	553
cit. *c*	cit. c_1	cit. a—a_3	+0,26	550
cit. *a*	cit. *c*	cit. a_3	+0,28	605
cit. a_3	cit. *a*, *c*	oxigen	+0,30	600

Citocromii pot forma complexe cu unele substanţe (CO, HCN, H_2S) care afectează funcţionarea lor. De exemplu, compusul rezultat prin combinarea CO cu Fe^{2+} din citocromul a—a_3 este extrem de toxic pentru organism.

5.12.1.4. OXIDAZE

Sînt oxidoreductaze care catalizează reacţiile anumitor substraturi cu oxigenul molecular sau al peroxizilor, fiind caracterizate prin transfer de hidrogen sau de electroni de pe un donator pe un acceptor care este oxigenul molecular; ca produs de reacţie se formează H_2O (cu excepţia reacţiilor catalizate de uricază şi monoaminooxidază în care se formează H_2O_2). Reacţia generală este următoarea:



Tipuri de oxidare. În funcţie de mecanismul de acţiune, oxidazele includ următoarele tipuri: oxigenaze, hidroxilaze şi oxidaze transportoare de electroni.

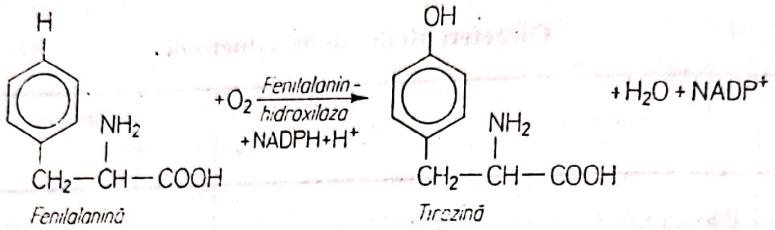
— *Oxigenaze.* Catalizează transferul direct şi încorporarea oxigenului în molecula unui substrat, participînd la sinteza sau la degradarea anumitor metaboliţi. *Dioxigenazele* catalizează încorporarea ambilor atomi de oxigen în molecula substratului (A): $A + O_2 \rightarrow AO_2$.

— *Hidroxilazele* (Monooxigenaze) posedă funcţie mixtă de oxidaze şi hidroxilaze, catalizînd încorporarea în molecula substratului a unui singur atom din molecula O_2, celălalt atom de oxigen fiind redus la apă; reacţia

Scanned with OKEN Scanner

necesită prezența unui cosubstrat care funcționează ca un donor adițional de electron (X): $A - H + O_2 + XH_2 \rightarrow A - OH + H_2O + X$.

Acțiunea hidroxilazelor necesită intervenția unui donator de hidrogen, ca de exemplu NADH, NADPH. Astfel, unele din enzimele implicate în biosinteza steroizilor sau în transformările acestora sînt hidroxilaze care utilizează NADPH drept cosubstrat, fiind distribuite în microzomii hepatici sau în mitocondriile și microzomii glandelor suprarenale. De asemenea, conversia fenilalaninei la tirozină implică o hidroxilază și un donator de hidrogen (NADPH):



O serie de enzime implicate în metabolismul multor medicamente sînt hidroxilaze, care se găsesc localizate în microzomii hepatocitului împreună cu citocromul *P-450* și citocromul b_5. La nivelul microzomilor, acești citocromi sînt reduși de către NADH sau NADPH și ulterior oxidați de către substrat în cadrul unor reacții enzimatice care formează *sistemul citocrom P-450 hidroxilaza*. Acest sistem intervine și în hidroxilarea steroizilor la nivelul cortexului suprarenal.

Asemenea reacții pot fi schematizate astfel:

$$\text{Medicament} - H + O_2 + 2\ \text{cit. P-450}\ (Fe^{2+}) + 2H^+ \xrightarrow{\text{Hidroxilază}} \text{Medicament} - OH + 2\ \text{cit. P-450}\ (Fe^{3+}) + H_2O$$

Lanțul transportor de electroni din microzomi corelat cu procesul de hidroxilare enzimatică poate fi reprezentat prin următoarea schemă:

$$\begin{matrix} NADH \rightarrow \text{Flavoproteină} \\ NADPH \rightarrow \text{Flavoproteină} \end{matrix} \rightarrow \text{cit.}b_5 \rightarrow \text{cit.P-450} \rightarrow \boxed{\text{HIDROXILARE}}$$

Este de menționat faptul că unele medicamente manifestă capacitatea de a induce sinteza cit. P-450 și a enzimelor microzomale implicate în reacții de hidroxilare.

— *Oxidaze transportoare de electroni*. Catalizează reacții prin care electronii substratului sînt transferați pe O_2; prin acceptarea de electroni, oxigenul devine apt pentru a se combina cu ionii de hidrogen spre a forma molecule de apă. Reacția generală este: $AH_2(red.) + 1/2\ O_2 \rightarrow A\ (ox.) + H_2O$, iar cea intermediară: $1/2\ O_2 + 2e^- \rightarrow O^{2-}$; $O^{2-} + 2H^+ \rightarrow H_2O$.

Ca exemple de asemenea oxidaze se menționează: *Citocromoxidaza* care este o hemoproteidă ce catalizează reacția de transfer a electronilor (proveniți prin oxidarea moleculelor de substrat) direct pe oxigenul molecular, ca acceptor final, pe care-l reduce: 2 Citocromoxidază $(Fe^{2+}) + 1/2\ O_2 \rightarrow 2$ Citocromoxidază $(Fe^{3+}) + O^{2-}$; $O^{2-} + 2H^+ \rightarrow H_2O$. Enzima este un hexamer, fiecare din cele șase subunități constitutive conținînd o grupare fier —

porfirină și cîte un atom de cupru; patru subunități ale hexamerului formează *citocromul* a_3 (a cărei formă redusă poate transfera electronii oxigenului), iar celelalte două subunități constituie *citocromul a* (care nu posedă capacitatea de a reacționa direct cu oxigenul). Citocromoxidaza este localizată în mitocondrii și reprezintă componentul terminal al lanțului respirator. *Fenolazele* (tirozinaza, polifenoloxidaza, cateholoxidaza) sînt oxidaze care transferă electroni direct pe O_2, conțin cupru și catalizează conversia (oxidarea) monofenolilor sau orto-difenolilor la orto-chinone. *Uricaza și monoaminoxidaza* sînt exemple de alte oxidaze a căror componentă prostetică conține cupru. Uricaza catalizează oxidarea acidului uric la alantoină, iar monoaminooxidaza oxidează diferite amine (adrenalina, tiramina, triptamina etc.), conform reacției: $R - CH_2 - NH_2 + O_2 + H_2O \rightarrow R - CHO + NH_3 + H_2O_2$.

5.12.1.5. HIDROPEROXIDAZE

Reprezintă oxidoreductaze care utilizează ca substrat de reacție peroxidul de hidrogen (H_2O_2). Din această categorie fac parte: peroxidazele și catalazele.

— *Peroxidazele* sînt heminproteide (Fe^{3+}) care catalizează reacția generală: $H_2O_2 + AH_2 \xrightarrow{\text{Peroxidază}} 2H_2O + A$. În această reacție peroxidul de hidrogen este redus, comportîndu-se ca un acceptor de H și respectiv de electroni: $H_2O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow 2H_2O$.

Peroxidazele sînt larg distribuite în diferite țesuturi și lichide ale organismului animal predominînd în leucocite, ficat, salivă și lapte. Importanța peroxidazelor constă în descompunerea H_2O_2 formată în țesuturi și care constituie un agent puternic de oxidare pentru diferiți metaboliți necesari celulei.

— *Catalazele* prezintă o structură analoagă peroxidazelor, conținînd ca grupare prostetică hemina. Pe lîngă activitatea lor similară peroxidazelor, catalazele pot utiliza o moleculă H_2O_2 ca substrat donator de electroni și o altă moleculă H_2O_2 ca oxidant sau acceptor de electroni, cu punere în libertate de oxigen molecular: $H_2O_2 + H_2O_2 \xrightarrow{\text{Catalază}} 2H_2O + O_2$. Funcția catalazelor este asociată deci cu descompunerea H_2O_2 formată în celule sub acțiunea dehidrogenazelor aerobe; manifestă, de asemenea, un rol detoxifiant. O_2 rezultat din reacție constituie o sursă de oxigenare a unor țesuturi și este utilizat, totodată, de celule pentru efectuarea anumitor reacții. În celule, se pare că activitatea peroxidazică a catalazelor este favorizată. Catalazele sînt distribuite în diferite țesuturi, predominînd în ficat și sînge.

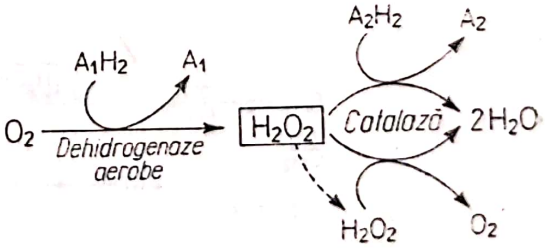


Fig. 5.32. Schema acțiunii catalazelor.

Peroxizomii din ficat sînt microcorpusculi bogați în dehidrogenaze aerobe și catalază, ceea ce constituie un avantaj biologic în sensul asocierii unor enzime producătoare de H_2O_2 cu enzime care descompun H_2O_2. Peroxizomii, sistemul mitocondrial și cel microzomal de transport a electronilor reprezintă surse de producere a H_2O_2.

Participarea catalazelor în reacțiile oxidative este prezentată în figura 5.32.

Scanned with OKEN Scanner

Reprezintă clasa de enzime care *catalizează transferul unei grupări chimice* — G — (alta decît H) *de la un substrat donator* (S_1) *la un alt substrat acceptor* (S_2):

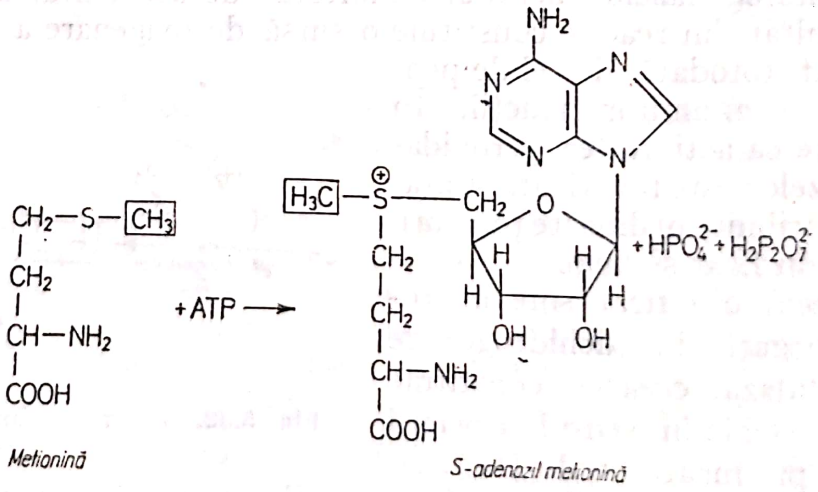
$$S_1 - G + S_2 \rightleftharpoons S_1 + S_2 - G.$$

Prin acest transfer, energia de legătură a grupării transferate este conservată.

Grupările transferate sînt de natură chimică diferită ca: grupări cu un singur atom de carbon (metil, hidroximetil, carboxil etc.), grupări aldehidă, cetonă, radicali acil, glicozil, grupări cu azot, cu fosfor etc. Transferazele își exercită acțiunea catalitică prin intermediul unor coenzime extrem de diverse ca structură chimică. În continuare se vor da cîteva exemple de transferaze.

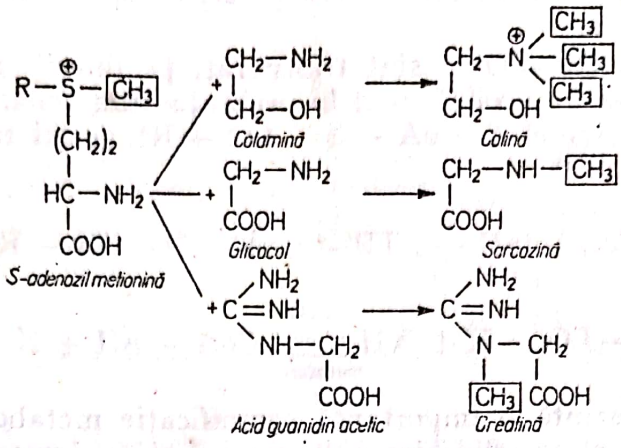
5.12.2.1. METILTRANSFERAZE

Sînt C_1-transferaze, respectiv transferaze care catalizează transferul unor radicali cu un atom C, în speță radicalul $-CH_3$. Ca substanțe donatoare de radicali metil funcționează metionina, colina etc., iar ca substanțe acceptoare: colamina, glicocolul, noradrenalina, acidul guanidinacetic etc. De exemplu, transferul enzimatic al radicalului $-CH_3$ de pe metionină necesită o prealabilă activare în prezența compusului macroergic ATP, formîndu-se un compus intermediar care ridică potențialul de transfer al radicalului $-CH_3$ devenit astfel „metil activat“:



S-adenozil-metionina este un compus de sulfoniu deosebit de reactiv care include radicalul $-CH_3$ sub o formă activată, putînd fi astfel tran-

sferat pe o moleculă acceptoare care conține un atom N cu un dublet de electroni neparticipanți:



Asemenea reacții sînt catalizate de metiltransferaze specifice în funcție de substanțele donatoare și acceptoare și se petrec în ficat, rinichi, creier, mușchi. Furnizorul principal de grupări metil în diferite reacții biochimice de metilare este metionina sub formă de adenozil-metionină.

5.12.2.2. ACILTRANSFERAZE

Sînt transferaze care catalizează transferul radicalului acil (R—CO—), avînd drept coenzimă *„Coenzima A"* (CoA—SH) denumită și coenzimă acilantă. Componentele structurale ale coenzimei A sînt : acidul pantotenic

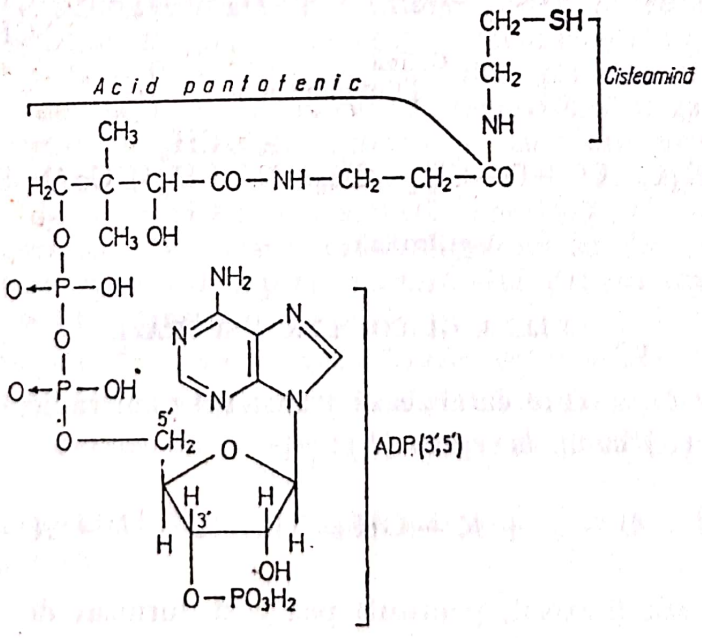


Fig. 5.33. Structura Coenzimei *A*.

(vitamină din complexul B) fosforilat, cisteamina (tioetanolamina) și adenozin -3', 5'-difosfat. Structura Coenzimei A este prezentată în figura 5.33.

Scanned with OKEN Scanner

Gruparea chimică activă la care se leagă radicalii acil și care intervine în reacțiile de transacilare este gruparea *tiol (-SH)*; la nivelul acestei grupări se formează o legătură tioester (mercaptoacil) bogată în energie, respectiv puternic exergonică.

Radicalii acil (R—CO—) sînt transferați pe diferiți acceptori —XH— (oze, aminoacizi, amine, colină etc.) în prezența transacilazelor și prin intermediul acil — coenzimei A (CoA — S — CO — R), acești radicali fiind astfel energizați:

$$R - COOH + CoA - SH + ATP \rightarrow CoA - S - CO - R + AMP + PP_i$$

$$CoA - S - CO - R + XH \underset{\text{transferaze}}{\overset{\text{Acil}}{\rightleftharpoons}} CoA - SH + X - CO - R$$

CoA—SH prezintă o importantă semnificație metabolică, deoarece intervine în diverse reacții biochimice de sinteză și de degradare a unor metaboliți.

Un rol esențial în diferite procese metabolice îl deține *acetil-Coenzima A*: CoA—S — CO—CH_3 („acetat activat"). Acetil coenzima A participă în anumite procese biochimice, constituind un „fond metabolic" comun („pool") pin care se stabilesc corelații între diferite căi metabolice; acest compus esențial rezultă din degradarea unor metaboliți (glucide, acizi grași, aminoacizi) și, totodată, constituie un precursor pentru sinteza altor metaboliți (acizi grași, corpi cetonici, steroli, hormoni corticosuprarenali și sexuali, acetilcolină etc.). De exemplu, participarea acetil-Coenzimei *A* la biosinteza acetil-colinei, mediator chimic neuro-muscular, se realizează conform următoarei reacții de transacetilare:

$$CoA-S\sim CO-CH_3 + HO-CH_2-CH_2-\overset{\oplus}{N}(CH_3)_3$$

Colină

↓ Colinacetilază

$$H_3C-CO-O-CH_2-CH_2-\overset{\oplus}{N}(CH_3)_3 + CoA-SH$$

Acetilcolină

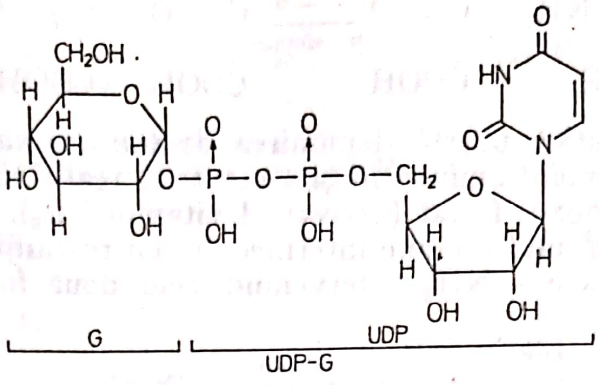
5.12.2.3. GLICOZILTRANSFERAZE

Sînt transferaze care catalizează transferul unui radical glucidic (Gl) de la un donator (*A*) la un acceptor (*R*):

$$Gl - O - A + R - OH \rightleftharpoons Gl - O - R + A - OH$$

Radicalul ozil (hexozil, pentozil) poate fi furnizat de diferiți donatori ca: oligoglucide, poliglucide, glicozizi, oze esterificate cu H_3PO_4. În reacțiile de transglicozilare, radicalii pot fi transferați pe alte oze sau derivați ai acestora, participînd astfel la biosinteza de diglucide și poliglucide. Ca transportor specific al radicalului glicozil funcționează unii nucleozid difosfați,

cel mai frecvent fiind uridindifosfatul (UDP). De exemplu, radicalul glicozil este activat și transferat sub formă de UDP-glucoză (UDP-G):



Nucleozid difosfații la care s-au legat oze pot fi considerați ca forme activate ale ozelor respective, deoarece conțin energia necesară pentru a forma legătura glicozidică. Întrucît energia liberă de formare a acestei legături este pozitivă, reacția trebuie cuplată cu o reacție generatoare de energie. Astfel, biosinteza diglucidelor se efectuează după schema generală:

$$oză_1 + ATP \rightarrow oză_1 - P + ADP$$

$$oză_1 - P + UTP \rightarrow UDP - oză_1 + PP_i$$

$$UDP - oză_1 + oză_2 \rightarrow \underbrace{oză_1 - oză_2}_{\text{Diglucid}} + UDP$$

În biosinteza glicogenului, într-o primă etapă se formează UDP-G, reacția fiind catalizată de glucozo-1-fosfat uridiltransferaza: $G - 1 - P + UTP \rightleftharpoons UDP - G + PP_i$. Ulterior, radicalul glicozil (G) astfel activat este transferat de pe UDP-G la capătul nereducător al unui fragment oligoglucidic preexistent (moleculă *„primer"*) cu formarea unei legături glicozidice α (1 → 4): $UDP - G + (glucoză)_n \rightarrow UDP + (glucoză)_{n+1}$. Reacția este catalizată de o glicozil transferază specifică (UDP-glucoză-glicogenglicozil transferaza). Ramificarea macromoleculei de glicogen cu formarea legăturilor 1 → 6 se realizează în prezența unei alte glicozil transferaze denumită amilo-1,4 → 1,6 transglicozilaza.

Un alt exemplu de glicozil transferază este α-1,4-glucan ortofosfat glicozil transferaza *(fosforilaza)* care catalizează transferul unui radical glicozil de pe macromolecula de glicogen cu formare de glucozo-1-fosfat (G-1-P):

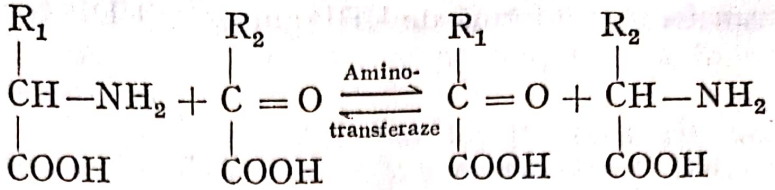
$$\underset{\text{Glicogen}}{(glucoză)_n} + H_3PO_4 \rightleftharpoons (glucoză)_{n-1} + G - 1 - P$$

5.12.2.4. AMINOTRANSFERAZE (transaminaze)

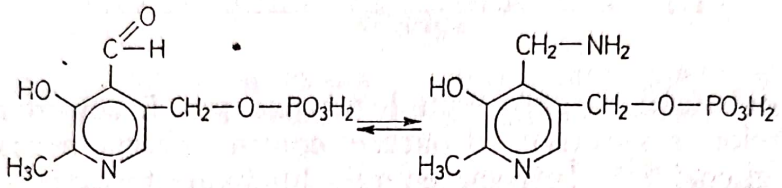
Sînt transferaze care catalizează transferul unei grupări $-NH_2$ de pe un aminoacid pe un α-cetoacid cu formarea unui alt aminoacid și a unui alt

Scanned with OKEN Scanner

α-cetoacid:



Reacția enzimatică poartă denumirea de *transaminare*, transferul grupării amină între cuplul aminoacid și α-cetoacid realizîndu-se prin intermediul coenzimei piridoxal fosfat (derivat al vitaminei B_6). Reacția de transaminare implică mai multe etape intermediare cu rearanjări intramoleculare, în transferul grupării $-NH_2$ intervenind cele două forme ale coenzimei:



Piridoxal fosfat *Piridoxamin fosfat*

Transaminarea constituie o reacție de dublă deplasare bazată pe un mecanism tip „*ping-pong*".

Ca donatori de grupări $-NH_2$ funcționează diferiți aminoacizi și, îndeosebi, acidul aspartic, acidul glutamic, alanina, glicocolul, iar ca acceptori frecvenți cetoacizii piruvic, oxalilacetic, α-cetoglutaric. *Exemple*:

a) Acid aspartic + Acid α-cetoglutaric $\xrightleftharpoons[\text{glutarat aminotransferaza}]{\text{Aspartat — 2 oxo-}}$

Acid oxalilacetic + Acid glutamic

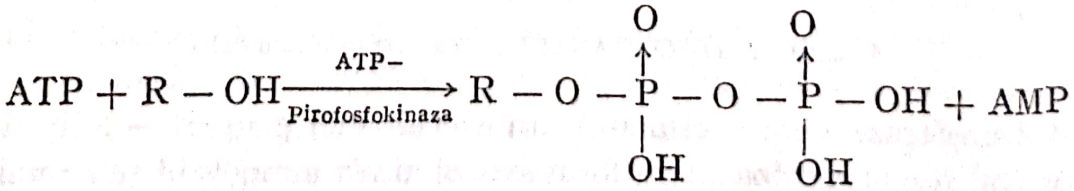
b) Acid glutamic + Acid piruvic $\xrightleftharpoons[\text{aminotransferaza}]{\text{Glutamat piruvat}}$

Acid α-cetoglutaric + Alanină

5.12.2.5. FOSFOTRANSFERAZE (kinaze)

Sînt transferaze care catalizează transferul unui radical al H_3PO_4(fosforil) sau al $H_4P_2O_7$ (pirofosforil) de pe un donator pe un acceptor. În general, aceste reacții se efectuează cu o substanțială modificare de energie, transferul radicalului fiind virtual ireversibil (cu excepția formării compușilor macroergici) și însoțit de un important schimb de energie liberă. Ca substrate donatoare de radicali cu fosfor și care participă la procesele de fosforilare funcționează diferiți nucleozid trifosfați bogați în energie și, în special, ATP:

$$ATP + R - OH \xrightarrow[\text{Fosfokinaza}]{\text{ATP}-} R - O - PO_3H_2 + ADP$$



Ca exemple de acceptori care se pot fosforila și activa în prezența fosfotransferazelor se menționează glucide (oze), aminoacizi, acizi grași, creatina, unele vitamine și coenzime, nucleozid mono-și difosfați:

$$ATP + Glucoză \xrightarrow[\text{transferaza}]{\text{Glicozil fosfo-}} Glucozo - 6 - P + ADP$$

$$ATP + HOOC - \underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}} - R \underset{\text{transferaza}}{\overset{\text{Aminoacil fosfo-}}{\rightleftharpoons}} AMP - CO - \underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}} - R + H_4P_2O_7$$

$$ATP + HN = C\begin{matrix}\diagup NH_2 \\ \diagdown N - CH_2 - COOH \\ \quad\quad | \\ \quad\quad CH_3\end{matrix} \underset{\text{Kinaza}}{\overset{\text{Creatin}}{\rightleftharpoons}} HN = C\begin{matrix}\diagup NH - PO_3H_2 \\ \diagdown N - CH_2 - COOH \\ \quad\quad | \\ \quad\quad CH_3\end{matrix}$$

Creatina — Creatinfosfat

$$ATP + Riboflavina\ (B_2) \xrightarrow[\text{Kinaza}]{\text{Flavin}} FMN + ADP$$

$$ATP + Piridoxal\ (B_6) \xrightarrow[\text{Kinaza}]{\text{Piridoxal}} Pirodoxal\ fosfat + ADP$$

$$ATP + NAD^+ \xrightarrow[\text{Kinaza}]{NAD+} NADP^+ + ADP$$

În prezența unor fosfotransferaze denumite *nucleozid difosfatkinaze*, ATP-ul poate fosforila nucleozid difosfații cu formare de nucleozid trifosfați:

$$ATP + UDP \rightleftharpoons UTP + ADP;\ ATP + CDP \rightleftharpoons CTP + ADP;\ ATP +$$

$$+ GDP \rightleftharpoons GTP + ADP$$

În reacțiile catalizate de fosfotransferaze (cu excepția celor în care ATP participă la formarea unor compuși bogați în energie), ATP acționează ca un donator de radical fosforil, aceste reacții fiind întovărășite de o pierdere de energie liberă ce este parțial utilizată pentru a crește nivelul energetic (activare) al substratului acceptor. Deoarece numeroase reacții catalizate de fosfotransferaze implică participarea ATP și ADP, aceste nucleotide constituie un „centru" comun pentru transferul radicalului fosforil (fig. 5.34).

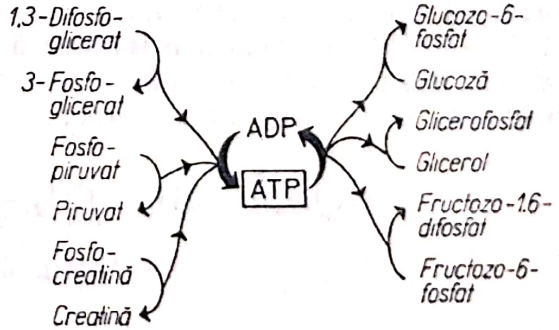


Fig. 5.34. Participarea ATP în reacția de fosforilare a diferitelor substraturi.

Scanned with OKEN Scanner

5.12.3. HIDROLAZE

Reprezintă clasa de enzime care catalizează *scindarea hidrolitică a moleculelor de substrat prin clivarea legăturilor dintre un atom de carbon și alți atomi* sub acțiunea H_2O, conform reacției generale:

$$R_1 - O - R_2 + HOH \xrightleftharpoons{\text{Hidrolază}} R_1 - OH + R_2 - OH$$

Principalele legături chimice care pot fi scindate prin hidroliză enzimatică sînt: legătura ester, legătura glicozidică, legătura peptidică.

În general, reacțiile de hidroliză enzimatică sînt reversibile și se realizează cu o variație mică de energie liberă.

5.12.3.1. ESTERAZE

Sînt hidrolaze care catalizează scindarea hidrolitică a legăturilor ester cu eliberarea componentelor constituente — *acid* și *alcool*. Există mai multe tipuri de esteraze în funcție de natura chimică a acidului care participă la formarea legăturilor ester.

Carboxilesteraze Catalizează scindarea hidrolitică a esterilor carboxilici:

$$\underset{\text{Ester}}{R_1-CO-\ddot{O}-R_2} \underset{-HOH}{\overset{+HOH}{\rightleftharpoons}} \underset{\text{Acid}}{R_1-COOH} + \underset{\text{Alcool}}{R_2-OH}$$

Din această categorie fac parte:

— *Lipazele* sau *glicerolesterhidrolazele* care hidrolizează gliceridele cu formare de glicerol și acizi grași. Se găsesc distribuite în diferite organe, în intestin, suc pancreatic, sînge, țesut adipos; preponderent sînt secretate de pancreas. Lipazele sînt activate de ionii Ca^{2+}, de acizii biliari și de albumine.

— *Fosfolipazele* care hidrolizează legăturile ester din glicerofosfatide (fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina) cu eliberarea acizilor grași din pozițiile α și β ale glicerolului esterificat.

— *Colesterolesterazele* care hidrolizează esterii colesterolului cu formare de acizi grași și colesterol.

— *Colinesterazele* care scindează hidrolitic esterii colinei prezenți îndeosebi în țesutul nervos, sinapse, mușchiul striat, eritrocite. Ca reprezentant principal este *acetilcolinesteraza*:

$$(H_3C)_3\overset{+}{N} - CH_2 - CH_2 - \ddot{O}(H) - CO - CH_3 \xrightleftharpoons[\text{esteraza}]{\text{Acetilcolin-}}$$

Acetilcolina

$$(H_3C)_3\overset{+}{N} - CH_2 - CH_2 - OH + CH_3 - COOH$$

Colina

Acetilcolina este un *mediator chimic* care facilitează transmiterea influxului nervos la nivelul joncțiunii neuromusculare: totodată, modifică permea-

Scanned with OKEN Scanner

bilitatea membranei celulare pentru ionul Na^+, favorizînd pătrunderea acestuia în celulă.

Tioesteraze. Catalizează scindarea hidrolitică a tioesterilor:

$$\underset{\text{Tioester}}{R - CO - S - R'} \overset{+HOH}{\underset{-HOH}{\rightleftharpoons}} R - COOH + R' - SH$$

De exemplu, *acil — S — CoA hidrolazele* catalizează scindarea hidrolitică a legăturii tioester din acil — Coenzima A:

$$R - CO - S - CoA \overset{+HOH}{\underset{-HOH}{\rightleftharpoons}} R - COOH + CoA - SH$$

Fosfoesteraze. Catalizează scindarea hidrolitică a esterilor acidului fosforic (monoesteri sau diesteri) cu formare de alcool și H_3PO_4:

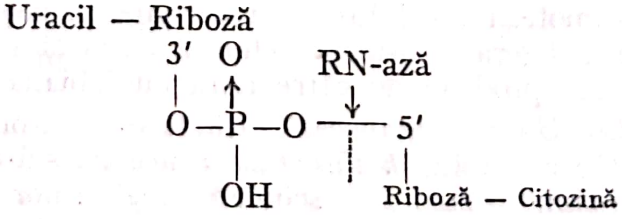
$$R - O - PO_3H_2 + HOH \overset{\text{Fosfo-}}{\underset{\text{monoesteraza}}{\rightleftharpoons}} R - OH + H_3PO_4$$

Monoesterii acidului fosforic sînt hidrolizați de către fosfomonoesteraze, iar diesterii acidului fosforic de către fosfodiesteraze.

— *Fosfomonoesterazele (fosfatazele)* sînt de mai multe tipuri, în funcție de *p*H-ul lor optim de acțiune, și anume: a) *Fosfataze alcaline* (Tip I) care acționează la *p*H = 8,6 — 9,4; sînt prezente în țesutul renal, epiteliul intestinal, oase, serul sanguin; b) *Fosfataze acide* (Tip II) care acționează la *p*H = 5,0 — 5,6; sînt distribuite în ficat, rinichi, splină, prostată; c) *Fosfataze acide* (Tip III) care acționează la *p*H = 3,4 — 4,2; se găsesc în ficat, splină.

— *Fosfodiesterazele* acționează hidrolitc asupra legăturilor fosfodiester. Din această categorie fac parte *nucleazele* — ribonucleaze și deoxiribonucleaze — care catalizează scindarea hidrolitică a acizilor nucleici respectivi, depolimerizîndu-i.

Ribonucleazele sînt *endonucleaze* care scindează hidrolitic legăturile fosfodiester din interiorul macromoleculei ARN la nivelul legăturii nucleotid — 5′ — fosfat, fără să afecteze legătura 3′ — fosfat; se obțin astfel, prin hidroliză, nucleotide cu radicalul fosforil la — OH din poziția ß′ a ribozei:



Fosfodiesterazele se comportă și ca *exonucleaze*, acțiunea lor hidrolitică propagîndu-se de la extremitățile catenei de ARN fie în direcția 5′ → 3′, fie în cea opusă 3′ → 5′ cu eliberare de ribonucleotide.

Scanned with OKEN Scanner

Deoxiribonucleazele sînt *endonucleaze* care catalizează scindarea hidrolitică a ADN în interiorul catenelor polinucleotidice cu formare de oligodeoxiribonucleotide 5'-fosfat (ADN-aza I) sau 3'-fosfat (ADN-aza II); acestea sînt ulterior hidrolizate de către fosfodiesteraze (exonucleaze) pînă la stadiul de deoxiribomononucleotide.

5.12.3.2. GLICOZIDAZE (glicozid hidrolaze)

Sînt hidrolaze care catalizează scindarea hidrolitică a legăturii glicozidice caracteristică oligo- și poliglucidelor:

$$\underset{\text{Diglucid}}{G - O - G_1} \xrightleftharpoons{HOH} \underset{\text{Oză}}{G - OH} + \underset{\text{Oză}}{G_1 - OH}$$

Glicozidazele prezintă specificitate în funcție de tipul de oză legată glicozidic (glicozidaza, galactozidaza, fructozidaza etc.), de natura acestei legături (forme anomere α, β,), de stereoizomerie (D — sau L-glicozizi). Ca exemple de glicozidaze se menționează:

— *Maltaza* este o α-glicozidază care scindează hidrolitic legătura glicuzidică (α → 1,4) din maltoză, eliberînd două molecule de α-D-glucoză.

— *Lactaza* scindează hidrolitic diglucidul lactoza cu formare de α-glucoză și β-galactoză; este o enzimă adaptivă care se biosintetizează numai în prezența substratului (lactoza).

— *Zaharaza* sau β-fructozidaza scindează legătura β-fructozidică din zaharoză cu formare de β-fructoză și α-glucoză.

— *Celobiaza* este o β-glicozidază care scindează hidrolitic celobioza cu eliberarea a două molecule de β-glucoză.

— *Amilazele* sînt poliglicozidaze care catalizează scindarea hidrolitică a legăturilor glicozidice (α → 1,4) din macromolecula glicogenului și amidonului. Sînt de mai multe tipuri, și anume: *α-amilaze* (endoamilaze) prezente în organismele animale (ficat, mușchi, sînge, salivă) care scindează legăturile glicozidice din interiorul lanțului poliglucidic, cu formare de maltoză și dextrine; *β-amilaze* (exoamilaze) care scindează legăturile de la capetele lanțului poliglucidic, cu formare de maltoză și dextrine; *1,6-amilaze* care scindează legăturile 1,6 din amilopectină producînd deramifierea macromoleculei.

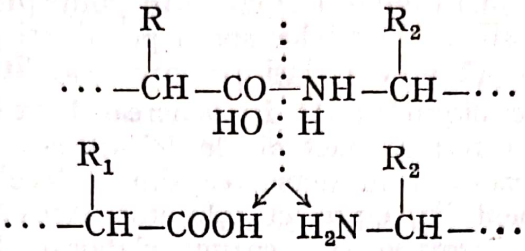
— *Celulaze* sînt poliglicozidaze care scindează hidrolitic legăturile α-glicozidice din macromolecula celulozei, cu formare de celobioză. Ierbivorele au capacitatea de a digera și asimila celuloza datorită prezenței în tractul digestiv a celulazelor produse de către flora microbiană.

— *Mucopoliglicozidazele* catalizează scindarea hidrolitică a diverselor mucopoliglucide. De exemplu, *hialuronidaza* are ca substrat acidul hialuronic pe care-l depolimerizează prin scindarea legăturilor β-glucozidice (β → → 1,3) cu eliberare finală de acid glucuronic și N-acetilglucozamină. Hialuronidaza prezentă în spermatozoizi depolimerizează stratul de acid hialuronic care înconjură ovulul, facilitînd astfel fecundația; are rol, de asemenea, în împiedicarea pătrunderii unor toxine și bacterii în organism.

Scanned with OKEN Scanner

5.12.3.3. PEPTIDHIDROLAZE (peptidaze)

Sînt hidrolaze care catalizează scindarea hidrolitică a legăturilor peptidice caracteristice structurii protidelor:

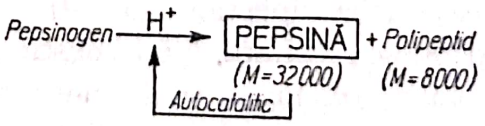


În funcție de regiunea din molecula peptidelor sau polipeptidelor la nivelul căreia acționează, peptidazele se subdivid în *endopeptidaze* și *exopeptidaze*. Cu excepția catepsinelor, majoritatea peptidazelor acționează la nivelul tubului digestiv avînd ca substrat protidele de origine exogenă, motiv pentru care li se atribuie și denumirea de *enzime proteolitice*. Prezintă o specificitate relativă în raport cu substratul, acționează la valori de *p*H diferite și necesită anumiți ioni metalici bivalenți pentru activitatea lor catalitică.

Endopeptidazele (sau proteinazele) prezintă următoarele *caracteristici generale*: clivează legăturile peptidice în anumite poziții din interiorul catenei polipeptidice; au ca substrat proteinele și polipeptidele cu masă moleculară mare, iar ca produși de hidroliză catene polipeptidice mai scurte, respectiv cu masă moleculară mai mică; prezintă o specificitate largă de acțiune; sînt sintetizate în sistemul ribozomal din celule sub formă de *proenzime* (precursori inactivi) și ulterior secretate din celule în tracul digestiv unde sînt rapid convertite în formele lor active; formele enzimatic active rezultă după eliberarea din molecula proenzimelor a unor fragmente peptidice care acționează ca inhibitori (existența lor sub forma inițial inactivă are un efect protector, prevenind digerarea mucoaselor tractului digestiv); sînt serin-proteaze, situsul lor catalitic conținînd un radical de serină reactiv; unele acționează la *p*H acid, iar altele la *p*H alcalin.

Reprezentanți ai endopeptidazelor:

— *Pepsina*. Este secretată în regiunea pilorică a stomacului sub formă inactivă de *pepsinogen*. Forma enzimatică activă — pepsina — rezultă prin îndepărtarea (sub acțiunea HCl) de la capătul N-terminal al pepsinogenului a unui fragment polipeptidic (42 aminoacizi) cu masă moleculară de 8 000 și care are un efect inhibitor:



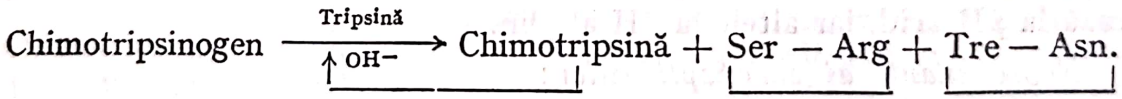
Pepsina poate rezulta și sub acțiunea sa directă — autocatalitică — asupra moleculei de pepsinogen. Prezentă în sucul gastric, pepsina acționează

la pH = 1,5 — 2,5, are o largă specificitate și scindează preferențial proteinele la nivelul legăturilor peptidice formate între *un aminoacid aromatic* (tirozină, fenilalanină) și *un aminoacid monoaminodicarboxilic* (acid aspartic, acid glutamic), precum și legături peptidice în care sînt implicate metionina și leucina. Pepsina hidrolizează parțial proteinele native cu formare de proteoze și peptone, constituite din fragmente polipeptidice cu masă moleculară mare. Deși pepsinele diferitelor specii pot diferi prin anumite detalii structurale, ele manifestă însă același potențial catalitic.

— *Tripsina.* Este biosintetizată în pancreasul exocrin și secretată în intestinul subțire sub formă inactivă de *tripsinogen.* Forma enzimatică activă — tripsina — rezultă prin detașarea din molecula tripsinogenului a unui fragment hexapeptidic, cu efect inhibitor. Această activare se realizează sub acțiunea *enterokinazei* — enzimă elaborată la nivelul mucoasei intestinale — sau autocatalitic de către tripsina liberă deja existentă:

Eliberarea hexapeptidului induce o modificare în configurația moleculei de tripsină și determină accesul substratului la situsul catalitic al enzimei (serină, histidină) devenită astfel activă. Prezentă în sucul intestinal, tripsina manifestă o activitate optimă la pH = 7,0 — 9,0 și acționează asupra produșilor de degradare ai pepsinei, respectiv asupra proteinelor denaturate, scindînd preferențial legăturile peptidice stabilite între *aminoacizii bazici lizină și arginină*, precum și legăturile peptidice existente între aminoacizi aromatici. Produșii săi de hidroliză sînt polipeptide și peptide.

— *Chimotripsina.* Ca și tripsina, este elaborată de către pancreasul exocrin și secretată în intestinul subțire sub formă inactivă de *chimotripsinogen.* Chimotripsina activă rezultă sub acțiunea consecutivă a tripsinei și chimotripsinei deja existente, care induc eliberarea succesivă din molecula chimotripsinogenului a două dipeptide:



Există mai multe tipuri de chimotripsine (α, β, γ etc.), în funcție de gradul de hidroliză al chimotripsinogenului de către tripsină.

Chimotripsinogenul este constituit dintr-un singur lanț polipeptidic conținînd 245 radicali de aminoacizi și 5 legături — S — S — intracatenare. Conversia chimotripsinogenului la forma enzimatic activă (α-chimotripsină) se realizează prin eliberarea a două dipeptide Ser (14) — Arg (15) și Tre—(147) — Asn (148), α-chimotripsina rezultată, fiind constituită din 3 lanțuri polipeptidice; acestea se organizează într-o conformație care conferă activitate catalitică datorită faptului că aminoacizii esențiali pentru această activitate (histidina din poziția 57 și serina din poziția 195) localizați în două lanțuri diferite ale moleculei devin poziționat foarte apropiați unul de altul. Deci,

Scanned with OKEN Scanner

noua configurație dobîndită creează o poziție activă pentru exercitarea funcției catalitice (fig. 5.35).

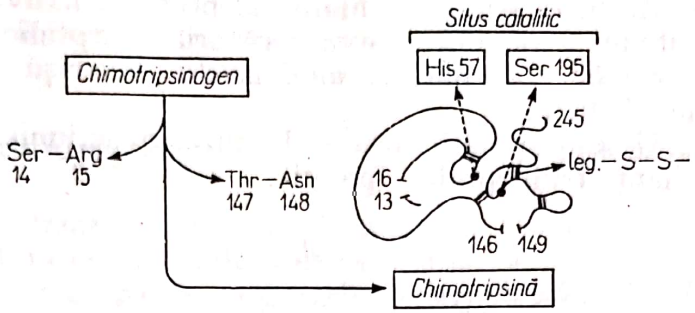


Fig. 5.35. Topografia situsului catalitic în molecula chimotripsinei.

Mecanismul de acțiune al chimotripsinei (Chtr.) asupra substratului său de reacție implică, inițial, formarea unui compus intermediar cu o legătură covalentă la gruparea — OH a serinei (195); totodată, ciclul imidazol al histidinei (57), care posedă un caracter bazic, favorizează atacul nucleotil al grupării — OH a serinei la atomul C al legăturii peptidice din molecula substratului (fig. 5.36.)

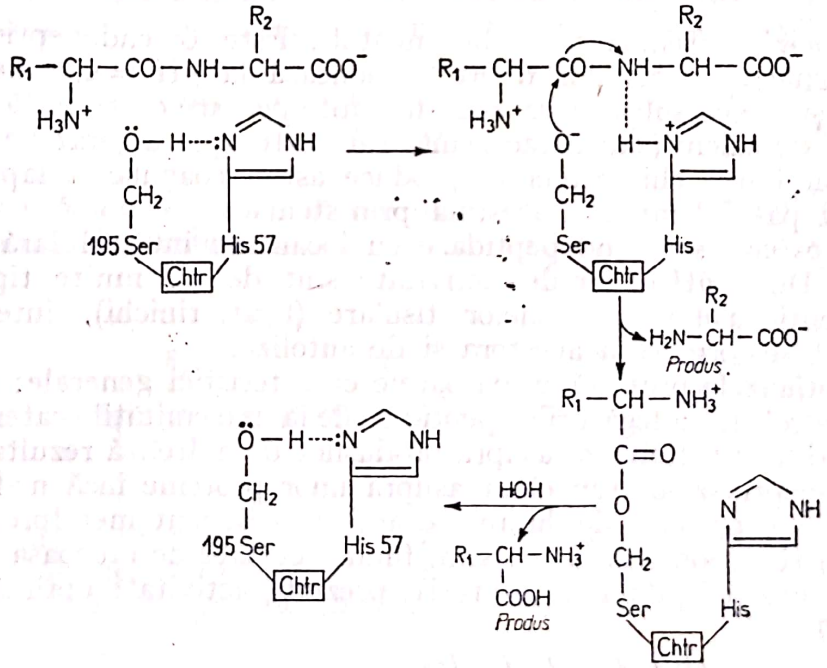


Fig. 5.36. Mecanismul de acțiune al chimotripsinei.

Etapele acestui mecanism sînt următoarele: protonul de la gruparea — —OH a serinei (195) este transferat pe atomul N din ciclul imidazol al histidinei (57); se stabilește o legătură de hidrogen tranzitorie între histidină și substrat și se favorizează atacul nucleofil al O din serină la C implicat în legătura peptidică a substratului; din substrat se eliberează astfel un fragment (produs) prin scindarea legăturii peptidice; în prezența H_2O, se eliberează radicalul acil legat la serină, cu punerea în libertate a altui fragment (produs) și regenerarea enzimei libere.

Scanned with OKEN Scanner

Prezentă în sucul intestinal, chimotripsina acționează la pH = 8,0 — 9,0, în corelație cu tripsina. Activitatea sa catalitică este mai scăzută decît a tripsinei, însă are o putere de coagulare a laptelui mai mare decît cea a tripsinei. Chimotripsinele scindează hidrolitic proteine native și denaturate, proteoze și peptone, acționînd asupra legăturilor peptidice stabilite între *un aminoacid aromatic (tirozină) și unul aciclic.* Produșii săi de hidroliză sînt polipeptide și peptide.

În figura 5.37 este redată sintetic localizarea acțiunii unor endopeptidaze într-un lanț polipeptidic ipotetic.

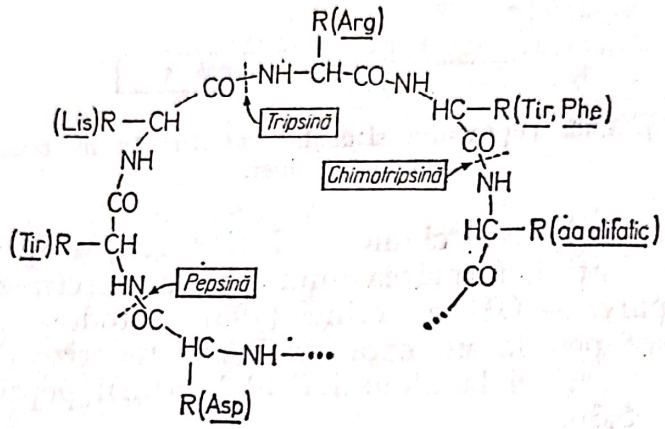


Fig. 5.37. Localizarea acțiunii unor endopeptidaze.

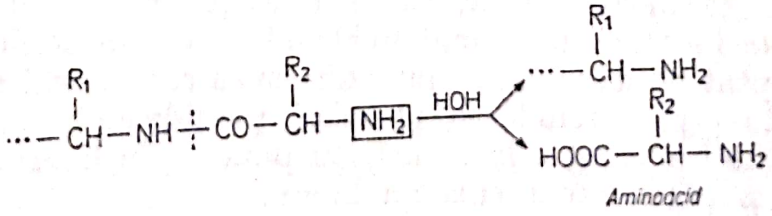
— *Chimozina* (renina sau labfermentul). Este o endopeptidază secretată în stomacul animalelor tinere; acționează la pH = 4,0, necesită prezența Ca^{2+} și are ca substrat cazeina din lapte pe care o precipită sub formă de cazeinat de calciu (sau paracazeină) care este apoi digerat de către pepsină. Sub acțiunea chimozinei se produce astfel coagularea laptelui, efect care previne pasajul rapid al acestuia prin stomac.

— *Catepsinele* sînt endopeptidaze cu localizare intracelulară la nivelul lizozomilor. După pH-ul lor de activitate sînt de mai multe tipuri; acționează hidrolitic asupra proteinelor tisulare (ficat, rinichi), intervenind în procese de transformare a acestora și de autoliză.

Exopeptidazele prezintă următoarele caracteristici generale: catalizează scindarea hidrolitică a legăturilor peptidice de la extremitățile catenei oligo — sau polipeptidice; acționează asupra produșilor de hidroliză rezultați prin acțiunea endopeptidazelor sau chiar asupra unor proteine încă nedigerate; în general, au ca produși de hidroliză aminoacizii; sînt metalproteide (Zn^{2+} Mg^{2+}, Mn^{2+}) și acționează în intestin, fiind secretate de mucoasa intestinală (pot fi prezente și în diferite țesuturi); prezintă activitate optimă la pH = = 8,0 — 9,0.

Reprezentanți ai expopeptidazelor:

— *Aminopeptidazele* hidrolizează legătura peptidică de la extremitatea catenei care are un aminoacid terminal cu gruparea — NH_2 liberă, eliberînd acest aminoacid (N-terminal):

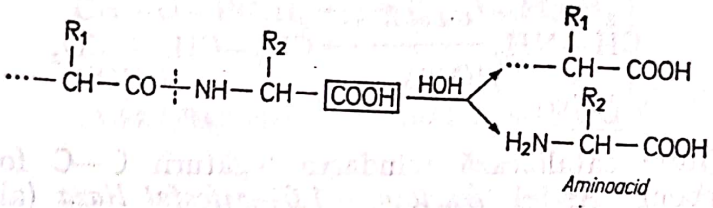


Produșii de hidroliză sînt oligopeptide și aminoacizi liberi. Se găsesc distribuite în intestin și în diferite țesuturi (rinichi, timus, splină, eritrocite).

— *Carboxipeptidazele* sînt secretate, prin sucul pancreatic, în intestin sub formă inactivă de procarboxipeptidaze A și B. Sub acțiunea tripsinei sînt convertite în formele enzimatic active, prin eliberarea de peptide cu efect inhibitor:

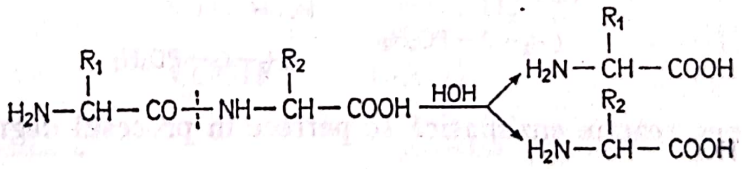
$$\text{Procarboxipeptidaze} \xrightarrow{\text{Tripsină}} \text{Carboxipeptidaze (A și B).}$$

Carboxipeptidazele sînt metalenzime conținînd Zn^{2+}; ele scindează hidrolitic legătura peptidică de la extremitatea catenei care posedă un aminoacid terminal cu gruparea — COOH liberă, eliberînd acest aminoacid (C — terminal):



Carboxipeptidaza A hidrolizează toate tipurile de legături peptidice de la extremitatea cu carboxil terminal, iar *carboxipeptidaza B* clivează preferențial legăturile peptidice cu carboxilul terminal al argininei sau lizinei. Produșii de hidroliză rezultați prin acțiunea carboxipeptidazelor sînt oligopeptide și aminoacizi. Se găsesc distribuite și în diferite țesuturi (pancreas, rinichi, splină etc.).

— *Dipeptidazele* au ca substrat dipeptidele pe care le scindează hidrolitic cu eliberare de aminoacizi:



Sînt prezente în intestin și în diferite țesuturi; prezintă specificitate în funcție de aminoacizii constituenți ai substratului și necesită pentru activitatea catalitică diferiți ioni metalici (Zn^{2+}, Mn^{2+}, Co^{2+}).

5.12.4. LIAZE

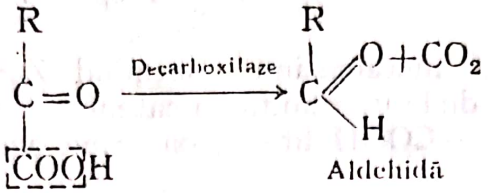
Reprezintă clasa de enzime care *catalizează scindarea moleculelor de substrat la nivelul legăturilor carbon — carbon, carbon — oxigen, carbon — azot* (cu excepția legăturii peptidice), *carbon — sulf* sau care determină apariția unei duble legături în molecula substratului (între atomii carbon — carbon și carbon — oxigen). Reacțiile catalizate de liaze implică un mecanism diferit de cel al hidrolazelor, întrucît nu intervin molecule de apă în sensul hidrolizei substratului.

Scanned with OKEN Scanner

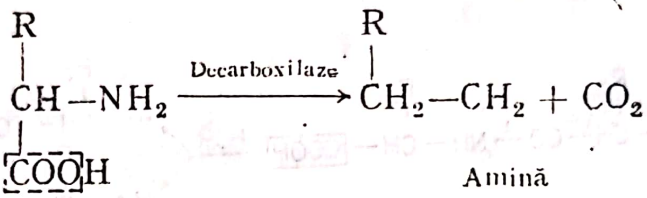
5.12.4.1. C—C LIAZE

Catalizează clivarea legăturilor carbon-carbon. Ca reprezentanți se menționează carboxiliazele și aldehidliazele.

— *Carboxiliazele* (sau decarboxiliazele) catalizează reacțiile de decarboxilare avînd ca substrat α-cetoacizi (piruvat decarboxilaza, oxalilacetat decarboxilaza etc.), aminoacizi (aminoacid decarboxilaze). Reacțiile generale sînt de tipul:

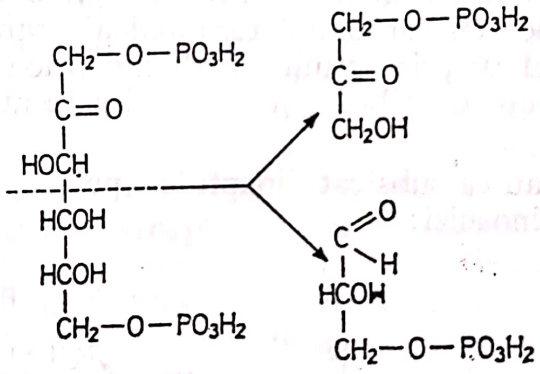


Aldehidă



Amină

— *Aldehidliaze* catalizează scindarea legăturii C—C formînd produși cu grupări carbonil. Astfel, *fructozo — 1,6—difosfat liaza* (aldolaza) are ca substrat F — 1,6 —P pe care-l clivează în două molecule de triozofosfați (dihidroxiaceton — 1 — P și gliceraldehid — 3—P):

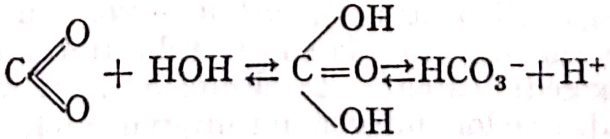


O asemenea reacție enzimatică se petrece în procesul degradării glucozei (glicoliză).

5.12.4.2. C—O LIAZE

Catalizează clivarea legăturii carbon — oxigen în prezența H_2O sau adiționarea H_2O la dubla legătură $>C=C<$ cu formarea unei legături carbon — oxigen. În această subclasă se includ *hidroliazele*, denumire conferită de intervenția în reacție a moleculelor de apă. Ca reprezentanți se menționează:

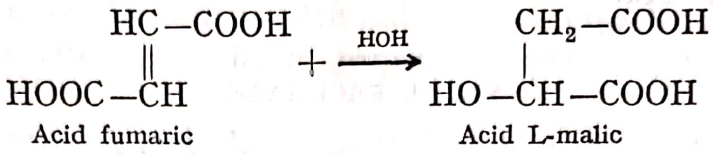
— *Carbonathidratazele* care catalizează reacția de formare a acidului carbonic prin hidratarea CO_2:



Acid carbonic

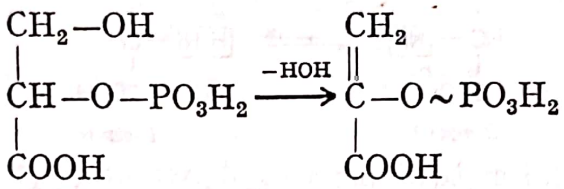
Aceste enzime conțin Zn^{2+} și sînt distribuite în mucoasa gastrică, eritrocite, rinichi.

— *Fumarathidrataza* catalizează reacția de adiție a H_2O la dubla legătură din acidul fumaric cu formare de acid L — malic:



Acid fumaric — Acid L-malic

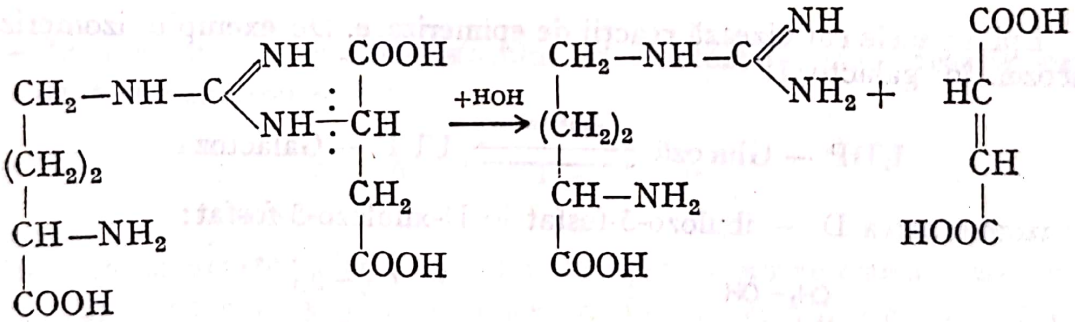
— *Enolaza* catalizează reacția de formare a acidului 2-fosfoenolpiruvic din acid 2 — fosfogliceric, reacție implicată în degradarea glucozei (glicoliză) și prin care se realizează o legătură bogată în energie:



Acid 2-P-gliceric — Acid P-enolpiruvic

5.12.4.3. C—N LIAZE

Catalizează scindarea legăturii carbon — azot. De exemplu, *argininsuccinat liaza* este o amidinliază care transformă substratul de reacție — acidul argininsuccinic — în produșii arginină și acid fumaric:

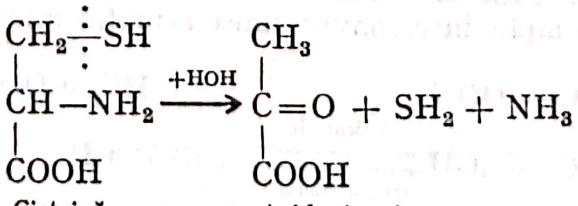


Acid argininsuccinic — Arginină — Acid fumaric

Această reacție se petrece în ciclul de formare a ureei (ureogeneză).

5.12.4.4. C—S LIAZE

Catalizează scindarea legăturii carbon — sulf. De exemplu, *cisteindesulfhidraza* acționează asupra cisteinei ca substrat eliberînd H_2S, conform reacției globale:



Cisteină — Acid piruvic

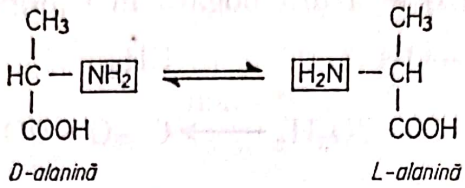
Scanned with OKEN Scanner

5.12.5. IZOMERAZE

Reprezintă clasa de enzime care catalizează anumite *rearanjări interne* în molecula substratului, cum ar fi modificări în configurație sau oxidoreducere intramoleculară.

5.12.5.1. RACEMAZE

Racemazele catalizează conversia formelor D și L ale unui substrat, ca de exemplu alanin racemaza, glutamat racemaza etc.:



D-alanină *L-alanină*

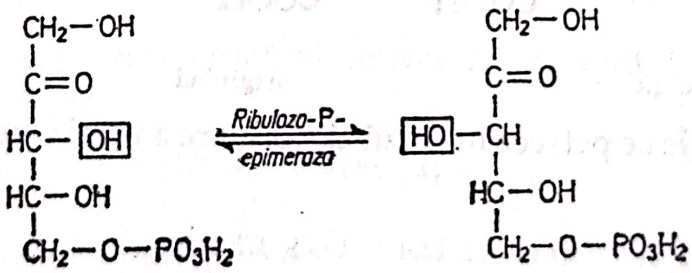
Asemenea reacții prezintă importanță, de exemplu în conversia din forma D în forma L a unor molecule pătrunse în organism odată cu hrana, organismul utilizînd numai forma L a moleculelor respective. În tumorile canceroase, se constată o eliminare crescută în urină de aminoacizi nenaturali din seria D rezultați sub acțiunea racemazelor specifice.

5.12.5.2. EPIMERAZE

Epimerazele catalizează reacții de epimerizare. De exemplu, izomerizarea glucozei în galactoză:

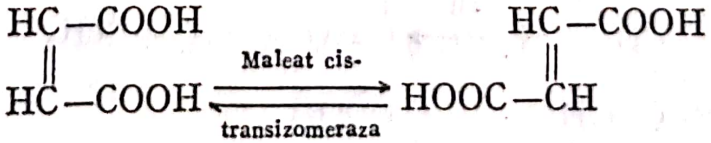
$$\text{UDP — Glucoză} \xrightleftharpoons{\text{4—epimeraza}} \text{UDP — Galactoză}$$

sau izomerizarea D — ribulozo-5-fosfat în D-xilulozo-5-fosfat:



5.12.5.3. IZOMERAZE CIS-TRANS

Izomerazele cis-trans catalizează reacția de izomerie *cis-trans* a unui substrat, ca de exemplu interconversiunea acidului maleic la acid fumaric:



Acid maleic Acid fumaric

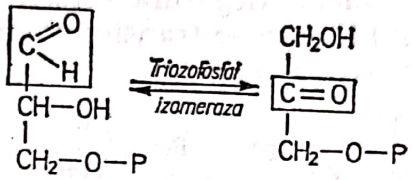
Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

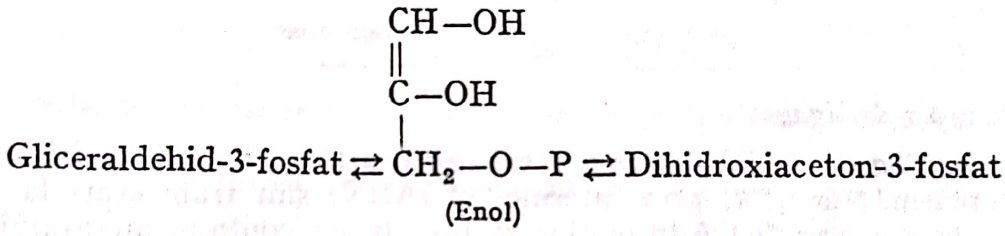
5.12.5.4. OXIDOREDUCTAZE INTRAMOLECULARE

Oxidoreductazele intramoleculare sînt izomeraze care catalizează interconversiunea grupărilor aldehidă şi cetonă din molecula diferitelor substraturi (reducere concomitentă a grupării aldehidă la gruparea alcool primar şi oxidarea grupării alcool secundar la gruparea cetonă). Ca] exemple se menţionează:

— Izomerizarea gliceraldehid-3-fosfat la dihidroxiaceton-3-fosfat:



Reacţia implică o *epimerizare* în care participă ca intermediar forma enol (endiol):

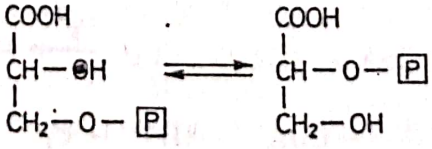


— Izomerizarea glucozo-6-fosfatului la fructozo-6-fosfat, reacţie catalizată de fosfohexoizomerază:

$$G-6-P \rightleftharpoons F-6-P$$

În clasa izomeraze se includ şi unele *transferaze intramoleculare* care catalizează transferul unor grupări chimice în diferite poziţii ale moleculei de substrat, ca de exemplu cele denumite generic fosfomutaze. Astfel, *fosfoglucomutaza* catalizează transferul intramolecular al radicalului fosforil din glucozo-1-fosfat cu formare de glucozo-6-fosfat:

În mod analog, *fosfogliceromutaza* catalizează transferul radicalului fosforil din poziţia 3 a acidului fosfogliceric în poziţia 2 cu formare de acid-2-fosfogliceric:



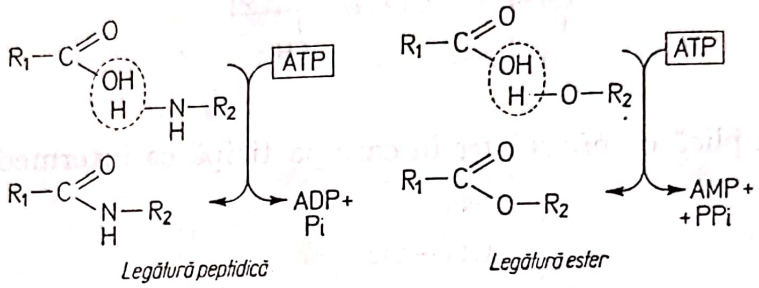
5.12.6. LIGAZE (sintetaze)

Denumite şi sintetaze, reprezintă clasa de enzime care *catalizează sinteza a doi reactanţi utilizînd ca sursă de energie ATP* sau alţi nucleozid trifosfaţi:

$$A + B + \text{ATP} \xrightarrow{\text{Ligaze}} A - B + \text{AMP} + PP_i$$

Ligazele determină formarea legăturilor C — C, C — O, C —N, C — S etc.

Ligazele prezintă o deosebită importanţă pentru sinteza proteinelor (legătură peptidică) şi a lipidelor (legătură ester), energia necesară sintezei fiind furnizată de către ATP care se transformă fie în ADP, fie în AMP:



Exemple de ligaze:

— *Aminoacid tARN-ligazele* catalizează activarea aminoacizilor liberi din citoplasmă; aceştia, prin intermediul *t*ARN, sînt transferaţi la nivelul ribozomilor unde participă la biosinteza proteinelor conform mesajului informaţional codificat în structura ADN şi transmis la ribozomi prin structura *m*ARN:

$$\text{L-aminoacid} + t\text{ARN} + \text{ATP} \xrightarrow[t\text{ARN-ligaza}]{\text{L-aminoacid}} \text{aminoacil} - t\text{ARN} + \text{AMP} + \text{PP}_i$$

— *Acil — Coenzima A-ligazele* catalizează reacţii prin care, în prezenţa CoA—SH, se formează un radical acil activat şi respectiv o legătură tioester:

$$\text{R} - \text{COOH} + \text{HS} - \text{CoA} + \text{ATP} \rightarrow \text{R} - \text{CO} - \text{S} - \text{CoA} + \text{AMP} + \text{PP}_i$$

(Acil-Coenzima A)

Radicalul acil astfel activat poate fi ulterior transferat pe un substrat de reacţie.

— *Carboxiligazele* (carboxilaze) catalizează reacţia de fixare a CO_2 pe un substrat; enzimele respective utilizează drept coenzimă Biotina (vitamină din complexul B) care are rolul de a activa şi de a transporta CO_2 cu formarea unui complex *Biotin-enzimă — COO⁻*. Ulterior, gruparea COO^- este transferată la un substrat activat sub formă de acil — Coenzima A. Etapele acestei reacţii sînt următoarele:

$$\text{R} - \text{CH}_2 - \text{COOH} + \text{CoA} - \text{SH} + \text{ATP} \xrightarrow{Mg^{2+}} \text{R} - \text{CH}_2 - \text{CO} - \text{S} -$$

$$- \text{CoA} + \text{ADP} + \text{P}_i$$

$$\text{Biotinenzima} + HCO_3^- + ATP \xrightarrow{Mn^{2+}} \text{Biotinenzimă} - COO^- + ADP + P_i$$

$$\text{Biotinenzima} - COO^- + R - CH_2 - CO - S - CoA \rightarrow R - \underset{\displaystyle COOH}{\underset{|}{CH}} - CO -$$

$$-S-CoA + \text{Biotinenzima}$$

Reacția generală de carboxilare cu participarea Biotinenzimei se bazează pe mecanismul indicat în figura 5.38.

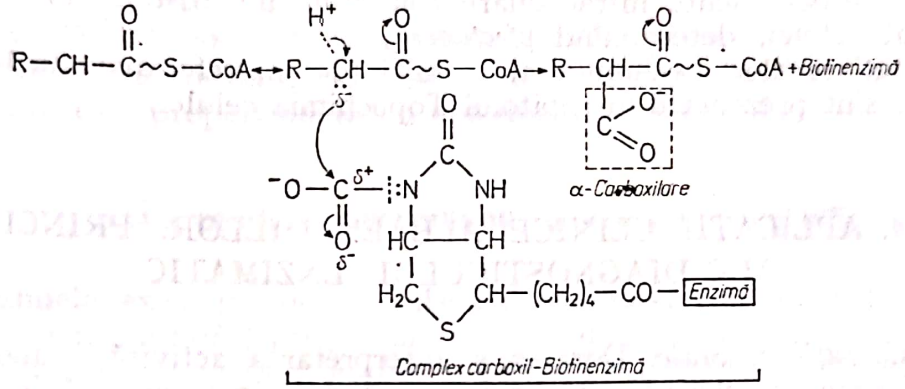


Fig. 5.38. Mecanismul reacției de carboxilare cu participarea Biotinenzimei.

Printr-un astfel de mecanism se formează, de exemplu, *malonil-Coenzima A* din acetil — Coenzima *A*, reacție prin care se inițiază biosinteza acizilor grași pe cale citoplasmatică:

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CO-S-CoA \end{array} + CO_2 + ATP \xrightarrow[\text{enzima}]{\text{Biotin}} \begin{array}{l} COOH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CO-S-CoA \end{array} + ADP + P_i$$

Un alt exemplu de fixare enzimatică directă a CO_2 îl constituie formarea acidului oxalilacetic din acid piruvic:

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ C=O \\ | \\ COOH \end{array} + CO_2 + ATP \xrightarrow[\text{enzima}]{\text{Biotin}} \begin{array}{l} COOH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ C=O \\ | \\ COOH \end{array} + ADP + P_i$$

5.13. ORGANIZAREA SUPRAMOLECULARĂ A ENZIMELOR. LOCALIZAREA LOR INTRACELULARĂ

În celulă, enzimele prezintă o distribuție topografică specifică, fiind localizate în diferite compartimente ale celulei — organite celulare și citoplasmă.

Scanned with OKEN Scanner

Această organizare supramoleculară se corelează cu participarea enzimelor la realizarea proceselor biochimice caracteristice anumitor formațiuni subcelulare, și respectiv cu coordonarea funcțională a sistemelor enzimatice la nivel celular integrat. Localizarea enzimelor în diferite formațiuni subcelulare reflectă astfel organizarea lor în unități funcționale. De exemplu, în *citoplasmă* (neparticulată) sînt localizate enzimele glicolizei, în *mitocondrii* enzimele ciclului Krebs, ale fosforilării oxidative (în general, enzime implicate în energetica celulară), în *lizozomi* enzime implicate în catabolismul macromoleculelor (în special hidrolaze) etc.

Organizarea supramoleculară a enzimelor și localizarea lor precisă în anumite compartimente intracelulare constituie un atribut biochimic definitoriu al celulei, determinînd *efectuarea*, *coordonarea*, *reglarea* și *controlul* tuturor activităților biochimice ale celulei (detalii referitoare la localizarea enzimelor sînt prezentate în capitolul Topochimia celulei).

5.14. APLICAȚII CLINICE ALE ENZIMELOR. PRINCIPII ALE DIAGNOSTICULUI ENZIMATIC

Considerații generale. Dozarea și interpretarea activității unor enzime din serul sanguin (plasmă) constituie o metodologie curentă de o deosebită valoare și semnificație clinică. *Enzimologia clinică* permite aprecierea manifestării și evoluției unor boli, a unor defecte genetice cu implicații patologice, precum și a comportării organismului în raport cu o anumită terapie aplicată.

În unele cazuri, pentru obținerea de informații cît mai precise în scop diagnostic și prognostic, determinările de activități enzimatice se completează cu stabilirea modelului izoenzimatic al unei anumite enzime; de exemplu, repartiția activității diverselor izoenzime LDH (lactat dehidrogeneza), și respectiv precizarea raporturilor cantitative între izoenzimele separate electroforetic prezintă o importantă semnificație clinică orientativă pentru stabilirea unui diagnostic diferențial sau evoluția unei afecțiuni.

În tabelul 5—8 sînt prezentate exemple de enzime care pot furniza indicații cu valoare clinică.

Tabelul 5—8

Enzime cu importanță clinică

Enzime	Afecțiuni
—Glutamat oxalilacetat transaminaza (GOT)	—Ficat, inimă
—Glutamat piruvat transaminaza (GPT)	—Ficat, inimă
—Fosfataza alcalină	—Ficat, dereglări osoase
—Amilaza	—Pancreas
—Creatinfosfokinaza	—Inimă, mușchi
—Aldolaza	—Mușchi, inimă
—Glucozo-6-fosfat dehidrogenaza	—Eritrocite (defecte genetice)
—Pseudocolinesteraza	—Ficat (pesticide)
—Pepsina	—Stomac
—Glutation reductaza	—Anemii
—Elastaza	—Boli de colagen

Scanned with OKEN Scanner

5.14.1. MODALITĂȚI DE DOZARE A ACTIVITĂȚII ENZIMATICE

Determinarea activității enzimatice în serul sanguin se poate efectua printr-una din următoarele căi:

— *dozarea unui substrat* al reacției enzimatice în prezența enzimei care catalizează reacția respectivă; activitatea enzimatică reprezintă diferența dintre concentrația substratului transformat în produs de reacție de către enzimă și concentrația substratului netransformat;

— *dozarea unui produs format* în reacția catalizată de enzimă, într-un anumit interval de timp;

— *dozarea unei coenzime* care participă la o reacție enzimatică; de exemplu, se determină viteza de reducere sau de oxidare a coenzimei (NAD^+, $NADP^+$), viteză care este proporțională cu activitatea enzimatică.

5.14.2. ORIGINEA ENZIMELOR SERICE (PLASMATICE)

Enzimele existente în ser (plasmă) pot avea trei proveniențe: *enzime specifice ale plasmei* (enzime cu rol în coagularea sîngelui, pseudocolinesteraza, lipoproteinlipaza); *enzime secretate de glande exocrine* și care difuzează în sînge (amilaza, lipaza, pepsinogenul, tripsina, fosfataza alcalină de origine biliară); *enzime provenite din celulele diferitelor organe* și care au substratul de reacție și coenzima în celula de origine (transaminaze, creatinfosfokinaza, lactat dehidrogenaza etc.).

Spre deosebire de enzimele specifice ale plasmei care au un rol funcțional, celelalte enzime existente nu au rol funcțional în sînge și se găsesc în concentrații de aproximativ 10^6 mai mici decît în țesuturile de origine.

În condiții normale, diferitele celule, inclusiv cele sanguine, eliberează în ser enzimele lor, ca urmare a procesului de reînnoire celulară sau a travaliului muscular. Prezența în concentrații mari în plasmă sau ser a enzimelor de origine celulară și respectiv exocrină este consecința modificărilor de permeabilitate a membranelor celulare, modificări datorate, în special, unor afecțiuni patologice care antrenează o lezare a celulelor. Eliberarea mai intensă a enzimelor celulare în plasmă se corelează cu procese de *citoliză*, ca o reflectare a unor evenimente patologice însoțite de creșterea permeabilității de membrană.

În general, există o relație directă între gradul de leziune celulară în anumite afecțiuni patologice și creșterea activității enzimelor din plasmă sau ser. În cursul citolizei, enzimele proprii unui organ sînt deversate în sînge, iar determinarea activității acestora în ser reflectă un anumit tip de *„spectru enzimatic"* al organului afectat, precum și intensitatea modificării de permeabilitate celulară în directă legătură cu viteza de trecere în sînge a enzimelor din celula lezată.

5.14.3. SEMNIFICAȚII ALE DIAGNOSTICULUI ENZIMATIC

Dozarea în ser a activității unor enzime provenite din celulele organului afectat dobîndește o semnificație clinică cu atît mai mare cu cît raporturile între activitățile anumitor enzime prezintă valori care se abat

Scanned with OKEN Scanner

mult de la cele considerate ca fiind normale. În funcție de localizarea leziunii, valoarea activității enzimelor serice provenite din organul respectiv, ca și interpretarea valorii unor raporturi între activitatea anumitor enzime, pot furniza date utile pentru clinică în legătură cu organul afectat, cu gradul de întindere și evoluție a leziunii de organ. O creștere semnificativă a activității unor enzime serice reflectă o leziune intensă, fapt ce denotă o destrucție celulară pronunțată.

Enzimologic, *sediul unei leziuni* poate fi localizat prin următoarele procedee: dozarea în ser a unor enzime specifice de organ, determinarea și interpretarea spectrului electroforetic al izoenzimelor LDH din ser, dozarea concomitentă a activității mai multor enzime din ser și compararea raporturilor activităților enzimatice obținute cu raporturile stabilite pentru cazul normal.

În figura 5.39 este redată schema corelației dintre gradul de leziune celulară, evoluția procesului patologic și manifestarea activității enzimatice la nivelul serului sanguin.

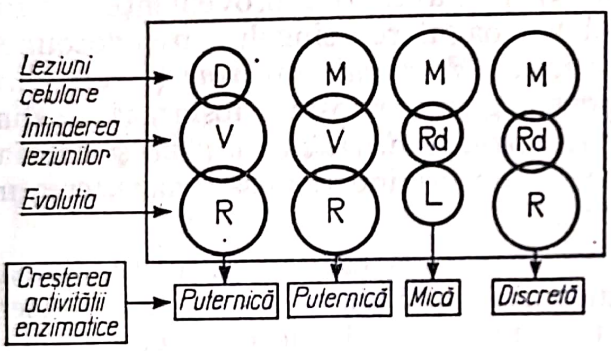


Fig. 5.39. Reprezentarea corelației dintre gradul de leziune celulară și activitatea enzimatică din serul sanguin:

D — leziuni discrete: *M* — masive; *V* — vaste; *Rd* — reduse; *R* — rapide; *L* — lente.

Determinarea în ser a activității unor enzime poate furniza indicații nu numai asupra afecțiunii de organ, ci și asupra localizării intracelulare — citoplasmatice sau mitocondriale — a leziunii. Această localizare este posibilă datorită repartiției diferențiate a enzimelor, unele având origine *unilocular*ă în citoplasmă (GPT, LDH) sau în mitocondrii (glutamat dehidrogenaza), iar altele o origine *biloculară* — citoplasmatică și mitocondrială (GOT, malatdehidrogeneza).

În concluzie, enzimologia clinică s-a constituit ca un domeniu metodologic de certă utilitate pentru stabilirea și aprecierea corelațiilor dintre dinamica modificărilor enzimatice din ser și manifestarea sub raport clinic a unor afecțiuni (hepatice, renale, musculare, biliare, sanguine, osoase, tumori maligne etc.).

5.15. TESTE DE VERIFICARE

1. Se dau următoarele coenzime: FAD, CoA-SH, NAD^+, TPP.

Să se indice denumirile acestor coenzime și să se precizeze care anume participă în reacțiile de transfer de hidrogen.

Scanned with OKEN Scanner

2. Activitatea enzimelor este dependentă de pH, fapt ce rezultă din datele consemnate în următorul tabel pentru o enzimă (E):

pH	Activitate (unități)	pH	Activitate (unități)
7,2	24,0	8,6	54,3
7,6	32,6	8,8	38,2
8,0	68,5	9,0	24,3

Să se indice pH-ul optim de activitate al enzimei (E) și să se traseze curba dependenței activității enzimatice în funcție de pH pentru valorile date.

3. Se dau următoarele reacții enzimatice simbolizate astfel:

a) $E + S \rightleftharpoons$

b) $E + S +$ Inhibitor allosteric $\rightleftharpoons$

Să se reprezinte prin scheme reacțiile menționate și să se completeze aceste reacții pe baza datelor rezultate din schemele obținute. Să se comenteze și să se interpreteze cele două tipuri de reacții enzimatice.

4. Enzimele E_1, E_2, E_3 se caracterizează prin următoarele valori ale K_m:

$$K_{m_1} = 2{,}5 \cdot 10^{-3}\ \text{M},\ K_{m_2} = 4 \cdot 10^{-4}\ \text{M},\ K_{m_3} = 8 \cdot 10^{-3}\ \text{M}.$$

Să se indice care din aceste enzime manifestă o afinitate mai mare pentru substrat și să se interpreteze soluția aleasă.

5. Activitatea unei enzime (ca viteză de reacție exprimată în μM/l) a fost determinată la următoarele concentrații [S] de substrat (Moli):

[S]	v	[S]	v
$1 \cdot 10^{-2}$	75	$7{,}5 \cdot 10^{-5}$	56
$1 \cdot 10^{-3}$	75	$6{,}0 \cdot 10^{-6}$	15
$1 \cdot 10^{-4}$	60		

Să se calculeze:

a) valoarea K_m a enzimei

b) viteza maximă (V_{max}) de reacție (în μM/l), utilizînd ecuația Michaelis-Menten și reprezentarea grafică obținută din valorile consemnate în tabel.

Scanned with OKEN Scanner

6. Dependența vitezei de reacție v (măsurată prin absorbție în uv) a unei enzime în funcție de concentrația [S] substratului (mM) este redată în următorul tabel:

[S]	v	[S]	v
1,7	0,172	6,7	0,303
3,3	0,250	10,0	0,334
5,0	0,286	20,0	0,384

Pe baza acestor date experimentale:

a) să se traseze reprezentarea Michaelis-Menten

b) Să se traseze reprezentarea Lineweaver-Burk

c) să se calculeze valorile V_{max} și K_m

d) să se compare valorile obținute prin cele două metode grafice.

7. Activitatea unei enzime (v) în funcție de [S] s-a determinat în prezența unui inhibitor X și a unui inhibitor Y, obținîndu-se următoarele date:

[S] M	v	
	Inhibitor X	Inhibitor Y
$2,0 \cdot 10^{-5}$	15,2	24,8
$1,0 \cdot 10^{-5}$	13,1	18,8
$5,0 \cdot 10^{-6}$	10,5	12,5
$2,5 \cdot 10^{-6}$	7,5	7,0

Să se determine prin metoda grafică:

a) viteza maximă de reacție (V_{max})

b) valoarea K_m a enzimei

c) tipul de inhibiție în prezența inhibitorului X și a inhibitorului Y, cu interpretarea respectivă.

8. Un extract enzimatic conține 15 mg proteină/ml; 8 µl din acest extract catalizează transformarea a 2µM de substrat în timp de 1 minut. Să se calculeze:

a) concentrația enzimei din extract în unități/ml

b) activitatea specifică a enzimei respective.

9. Se dau următoarele reacții enzimatice:

a) $R-O-CO-R' + H_2O \rightleftharpoons R-COOH + R'-OH$

b) $F-6-P + ATP \rightarrow F\text{-}1,6\text{-}P + ADP$

c) UDP-glucoză $\rightleftharpoons$ UDP-galactoză

Scanned with OKEN Scanner

d) 2 cit.b (Fe^{2+}) $\rightleftharpoons$ 2 cit. c_1 (Fe^{3+})

e) $CH_3-COOH + CoA-SH + ATP \rightarrow CH_3-CO-S-CoA + AMP + PP_i$

f) $CH_3-CHOH-COOH + NAD^+ \rightleftharpoons CH_3-CO-COOH + NADH + H^+$

g) G—6—P $\rightleftharpoons$ F—6—P

h) Acid succinic + FAD $\rightleftharpoons$ Acid fumaric + $FADH_2$

i) F—1,6—P $\rightarrow$ Gliceraldehid-3-P + Dihidroxiaceton-1-P.

Să se indice la ce clasă aparţin enzimele care catalizează fiecare din reacţiile menţionate.

10. Se dă reacţia generală:

$$S - H_2 + FAD + \text{Enzimă} \rightarrow$$

a) Să se completeze reacţia

b) Să se indice clasa la care aparţine enzima care catalizează reacţia menţionată

c) Denumirea şi structura coenzimei care participă la reacţia menţionată.

Scanned with OKEN Scanner

6

VITAMINE

6.1. CONSIDERAȚII GENERALE

Vitaminele reprezintă o clasă de substanțe organice de origine exogenă cu structuri chimice foarte variate, care sînt indispensabile organismului animal și care — în cantități mici — asigură creșterea, dezvoltarea și funcționarea normală a acestuia.

6.1.1. ROL ȘI CARACTERISTICI GENERALE

Vitaminele manifestă un spectru larg de acțiune, prezentînd următoarele caracteristici generale:

— sînt factori alimentari accesorii absolut necesari organismului animal;

— sînt indispensabile creșterii normale și manifestării proceselor vitale ale organismului;

— sînt componente esențiale pentru evoluția normală a proceselor metabolice;

— exercită acțiuni de reglare a funcțiilor celulare și intervin în utilizarea energiei, fără a deține un rol energetic propriu-zis;

— unele vitamine acționează în calitate de coenzime, asigurînd efectul catalitic al enzimelor cu care interacționează și modulînd activitatea acestora;

— unele vitamine acționează în procesele de oxidoreducere din organism, participînd la defășurarea unor reacții biochimice;

— există o disproporție între cantitățile mici în care acționează în organism și efectele biochimice și fiziologice pe care le produc;

— lipsa lor din alimentație induce anumite „leziuni biochimice" asociate cu disfuncții metabolice, modificări structurale la nivelul unor țesuturi, îmbolnăviri severe și infertilitate.

Între diferitele vitamine există corelații manifestate prin raporturi, în general, de sinergism. De exemplu, în raporturi sinergice se află: vitaminele *A* cu vitaminele *D*, cu vitaminele *E* și cu vitamina C; vitamina B_2 cu vita-

Scanned with OKEN Scanner

minele *A*; vitamina B_{12} cu acidul folic. Efectele generale și cele specifice exercitate de către vitamine se realizează în cadrul unor corelații funcționale, unele vitamine potențînd activitatea altor vitamine.

6.1.2. SURSE DE VITAMINE

Ca factori alimentari accesorii, vitaminele sînt de origine exogenă. În general, organismul animal nu are capacitatea de a sintetiza vitaminele necesare și, în consecință, este tributar aportului de vitamine prin hrană.

O excepție notabilă o reprezintă vitamina PP și vitamina C care pot fi sintetizate de animalele domestice (omul, primatele și cobaiul nu sintetizează însă vitamina *C*).

Sursa primordială furnizoare de vitamine pentru organism o reprezintă plantele și produsele acestora; o sursă secundară de vitamine o constituie flora bacteriană — localizată în rumen sau intestinul gros — care sintetizează anumite vitamine pe care le furnizează organismului.

6.1.3. VITAMINE ȘI PROVITAMINE

Organismul animal își procură vitaminele necesare ca atare — sub formă biologică activă — sau sub formă de *provitamine*. Provitaminele reprezintă precursori ai unor vitamine care dobîndesc atributul de vitamine biologic active numai după o prealabilă transformare chimică a lor în organism. De exemplu, carotinele funcționează ca provitamine ale vitaminelor *A*, iar anumiți derivați ai sterolilor ca provitamine ale vitaminelor *D*.

Vitaminele procurate prin hrană și cele rezultate din provitamine se distribuie în diferite țesuturi unde își exercită rolul biochimic și fiziologic, unele din ele putîndu-se chiar acumula la nivelul anumitor organe sau țesuturi.

Dezvoltarea zootehniei implică asigurarea necesarului de vitamine pentru diverse specii prin adaosuri la furaje a unor vitamine sau provitamine, utilizîndu-se ca surse unele subproduse provenite din industria alimentară și din cea de antibiotice, precum și vitamine obținute pe cale microbiologică.

Valorile medii ale necesarului în diferite vitamine la unele specii sînt redate în tabelul 6—1.

Tabelul 6—1

Valorile medii ale necesarului în diferite vitamine (raportate la 1 kg masă corp) pentru unele animale

Vitamine	Viței	Scroafe gestante	Scroafe lactație	Purcei	Porci sub 50 kg	Miei	Pui de găină
Tiamina (B_1) µg	25	90	85	65	80	40	2 000
Riboflavina (B_2) µg	20	95	95	120	95	30	3 100
Piridoxina (B_6) µg	60	75	75	95	85	50	3 400
Corinoide (B_{12}) µg	1,4	0,6	0,6	1,0	0,75	—	25
Acid pantotenic µg	80	145	210	350	295	120	11 500
Nicotinamidă (*PP*) µg	195	205	240	220	250	385	19 000
Retinoli (*A*) UI*	215	175	310	155	120	225	3 800
Calciferoli (*D*) UI	9	4	6	11	10	8	300
Tocoferoli (*E*) mg	0,5	0,7	0,7	0,6	0,6	0,2	21
Colina mg	45	50	50	45	50	—	1 350

* Unități Internaționale

Scanned with OKEN Scanner

6.1.4. CARENȚE VITAMINICE

Pentru buna sa funcționare, organismul are nevoie de o anumită doză zilnică de vitamine. Cerința zilnică în vitamine depinde de compoziția hranei, de specie, rasă și starea de sănătate a animalului. Insuficiența sau lipsa uneia sau a mai multor vitamine provoacă dezechilibre în funcționarea normală a organismului denumite generic carențe vitaminice sau boli prin carență. Carențele vitaminice sînt tulburări cauzate de diferiți factori și se pot manifesta ca *hipovitaminoze* determinate de lipsa parțială a unor vitamine sau ca *avitaminoze* determinate de lipsa totală sau aproape totală a vitaminelor din alimentație.

În funcție de gradul de carență vitaminică sau de durata pe care se extinde carența, hipovitaminozele și avitaminozele generează dereglări la nivelul organismului caracterizate prin anumite simptome generale ca: încetinirea sau oprirea creșterii animalelor tinere, stare de debilitate, receptivitate pentru infecții, leziuni specifice localizate la nivelul tegumentului, precum și în alte țesuturi, infertilitate etc.

Factorii care generează carențele vitaminice pot fi de natură exogenă (alimentară) sau endogenă (stări fiziologice deosebite sau stări patologice), și anume: alimentație deficitară în vitamine și provitamine (cauză care poate fi corectată prin echilibrarea hranei cu vitaminele necesare); defecte de asimilație datorate incapacității organismului de a transforma provitaminele în vitamine; defecte de absorbție a vitaminelor la nivelul intestinului; necesități crescute de vitamine în gestație, lactație; boli infecțioase care implică aport sporit de vitamine, în condițiile în care animalul consumă cantități mai mici de furaje; distrugerea florei bacteriene din rumen și intestinul gros (producătoare de vitamine), datorită administrării masive de antibiotice, sulfonamide sau prezenței unor substanțe cu efecte antivitaminice; efectul antivitaminelor.

6.1.5. ANTIVITAMINE

Reprezintă analogi structurali ai vitaminelor cu constituție chimică asemănătoare acestora; antivitaminele acționează ca antagoniști, anihilînd total sau parțial acțiunea vitaminelor și producînd simptome similare carenței vitaminice.

Ca mecanism general, antivitaminele acționează prin inhibiție competitivă, blocînd participarea vitaminelor cu rol de coenzime în diferite reacții catalizate de enzime; substituția vitaminelor de către antivitamine afectează sistemele enzimatice la care participă vitaminele și astfel deturnează evoluția normală a anumitor procese biochimice, cu repercusiuni nefavorabile pentru buna funcționare a organismului.

Ca antivitamine se comportă antibioticele, sulfonamidele, unele substanțe rezultate din furaje alterate și chiar unele enzime care inactivează diferite vitamine. Astfel, dicumarolul este o antivitamină K, ascorbaza și acidul glucoascorbic acționează asupra vitaminei *C*, tiaminaza acționează asupra vitaminei B_1, lipoxigenaza oxidează provitaminele *A* etc.

Scanned with OKEN Scanner

6.1.6. VITAMINE CU ROL DE COENZIME

O serie de vitamine deţin un rol major în reacţiile biochimice catalizate de enzime, funcţionînd în calitate de *coenzime*. Vitaminele cu rol de coenzime participă direct la manifestarea activităţii enzimelor respective fie ca vitamine propriu-zise, fie ca derivaţi ai acestora sub formă de esteri fosforici, esteri pirofosforici şi nucleotide; aceste vitamine cu funcţii de coenzime intervin în reacţii de oxidoreducere şi de transfer a unor grupări chimice. (Mecanismul de acţiune al coenzimelor este descris la capitolul 5. Enzime.)

În tabelul 6—2 sînt prezentate sinoptic vitaminele cu funcţie de coenzime şi tipurile de reacţii enzimatice la care participă.

Tabelul 6—2

Vitamine cu funcţii de coenzime şi tipurile de reacţii enzimatice la care participă

Vitamina	Coenzima	Tipul de reacţie	Gruparea transferată
Riboflavina (B_2)	Flavinadenin dinucleotid (FAD)	Oxidoreducere	H (electroni)
Nicotinamida (PP)	— Nicotinamidadenin dinucleotid (NAD^+)	Oxidoreducere	H (electroni)
	— Nicotinamidadenin dinucleotid fosfat ($NADP^+$)	Oxidoreducere	H (electroni)
Tiamina (B_1)	Tiaminpirofosfat (TPP)	Transfer grupare acil	$R-\overset{\overset{O}{\|\|}}{C}-$
Acid lipoic	Acid lipoic	Transfer grupare acil	$R-\overset{\overset{O}{\|\|}}{C}-$
Acid pantotenic	Coenzima *A* (CoA-SH)	Activare şi transfer grupare acil	$R-\overset{\overset{O}{\|\|}}{C}-$
Piridoxal (B_6)	Piridoxalfosfat	Transaminarea aminoacizilor	$-NH_2$
Biotina	Biotina	Fixarea CO_2	CO_2
Acizi pteroilglutamici	Tetrahidrofolat (FH_4)	Transfer fragmente cu un atom de carbon	$-CH_3$; $-CHO$
Corinoide (B_{12})	Coenzima B_{12}	Conversia metil-malonil — Coenzima *A*	Rearanjare intramoleculară

Deşi o serie de alte vitamine nu îndeplinesc funcţia de coenzime, ele pot totuşi influenţa anumite procese catalizate de enzime, acţionînd ca efectori enzimatici.

6.1.7. CLASIFICAREA ŞI NOMENCLATURA VITAMINELOR

Structura chimică a vitaminelor este extrem de eterogenă, fapt ce creează impedimente în clasificarea lor pe baze ştiinţifice. Un criteriu empiric încă acceptat de clasificare a vitaminelor îl constituie solubilitatea lor.

După acest criteriu, vitaminele se clasifică în două grupe:

— vitamine *hidrosolubile* (solubile în mediu apos)

— vitamine *liposolubile* (solubile în lipide şi solvenţi organici).

Scanned with OKEN Scanner

Din *grupa vitaminelor hidrosolubile* fac parte vitaminele integrate în „complexul B", și anume: tiamina (B_1), acidul lipoic, riboflavina (B_2), acidul pantotenic, nicotinamida (PP), piridoxina (B_6), biotina, acizii pteroilglutamici, corinoide (B_{12}), acidul pangamic (B_{15}), mezoinozitolul, acidul para-aminobenzoic, colina; de asemenea, în această grupă se încadrează acidul ascorbic și bioflavonoidele (P). Vitaminele hidrosolubile sînt termolabile și nu sînt acumulate ca rezerve de către organismul animal.

Din *grupa vitaminelor liposolubile* fac parte vitaminele: retinoli (A), calciferoli (D), tocoferoli (E), menaftone (K). Vitaminele liposolubile sînt, în general, termostabile și pot fi stocate sub diverse forme chimice în anumite țesuturi.

În general, nomenclatura vitaminelor este eterogenă, coexistînd atît denumiri chimice cît și denumiri empirice, uzuale; astfel, denumirea uzuală a diferitelor vitamine poartă indicativul unor litere sau derivă de la efectele fiziologice pe care le determină și respectiv de la efectele produse prin carența lor.

În tabelul 6—3 sînt redate clasificarea și nomenclatura vitaminelor, principalul rol biochimic pe care-l exercită și efectele produse prin carență.

Tabelul 6—3

Clasificarea și nomenclatura vitaminelor, principalul rol biochimic și efectele produse prin carență

Vitamine	Rol biochimic	Efecte carențiale principale
Hidrosolubile		
— Tiamina (B_1)	Decarboxilare Transfer grupare acil	Polinevrită
— Acid lipoic	Decarboxilare Transfer grupare acil	Corelație cu tiamina
— Riboflavina (B_2)	Transfer H	Dermatite
— Acid pantotenic (B_3)	Transfer grupare acil	Dermatite
— Nicotinamida (PP)	Transfer H	Pelagră, dermatite
— Piridoxina (B_6)	Metabolism aminoacizi	Dermatite
— Biotina (H)	Carboxilare	Dermatite
— Acizi pteroilglutamici (Folacina)	Transfer de grupări cu un atom de carbon	Anemie
— Corinoide (B_{12})	Metabolism metilmalonil — Coenzima A	Anemie pernicioasă
— Colina	Lipotrop	Tulburări de creștere
— Mezoinozitol	Lipotrop	Anemie
— Acid para-aminobenzoic	Formarea acizilor pteroilglutamici	Tulburări de creștere
— Acid ascorbic (C)	Oxidoreducere	Scorbut
— Bioflavonoide (P)	Oxidoreducere	Fragilitatea vaselor sanguine
Liposolubile		
— Retinoli (A)	Chimism vizual Controlul producerii keratinei	Hemeralopie, xeroftalmie, hiperkeratoză
— Calciferoli (D)	Metabolismul Ca și P	Rahitism
— Tocoferoli (E)	Antioxidanți ai acizilor grași nesaturați	Miodistrofie, sterilitate
— Menaftone (K)	Coagularea sîngelui	Diminuarea coagulării sîngelui, hemoragii

Scanned with OKEN Scanner

6.2. DESCRIEREA ŞI CARACTERIZAREA VITAMINELOR

6.2.1. VITAMINE HIDROSOLUBILE

6.2.1.1. TIAMINA (vitamina B_1)

Distribuţie. Este răspîndită în multe plante, în special în leguminoase, în seminţe (învelişul exterior) şi drojdie; în ţesuturile animale este larg distribuită, predominînd în muşchiul cardiac, creier, ficat, rinichi şi muşchiul scheletic. Flora microbiană din rumen sau intestinul gros constituie o sursă importantă de tiamină, mai ales la rumegătoare.

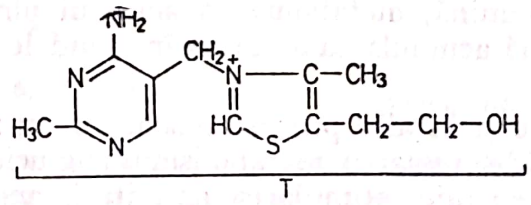
Conţinutul în tiamină din unele ţesuturi şi produse biologice este prezentat în tabelul 6—4.

Tabelul 6—4

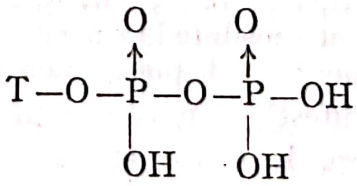
Conţinutul în tiamină din unele ţesuturi şi produse biologice

Sursa	mg/100g	Sursa	mg/100 g
Seminţe cereale (germeni)	2,5—5,6	Muşchi (bovine, ovine)	0,04—0,1
Leguminoase	0,5—0,9	Gălbenuş ou	0,05—0,15
Ficat, rinichi	0,1—0,4	Lapte	0,04—0,07
		Drojdie	1,8—3,0

Structură. Tiamina conţine un ciclu pirimidină şi un ciclu tiazol legate printr-o punte metilen:



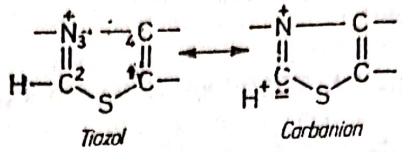
Rol biochimic. Forma activă a tiaminei o constituie esterul său pirofosforic denumit tiaminpirofosfat (TPP), care se formează prin fosforilarea vitaminei în prezenţa ATP şi a ionilor Mg^{2+}:



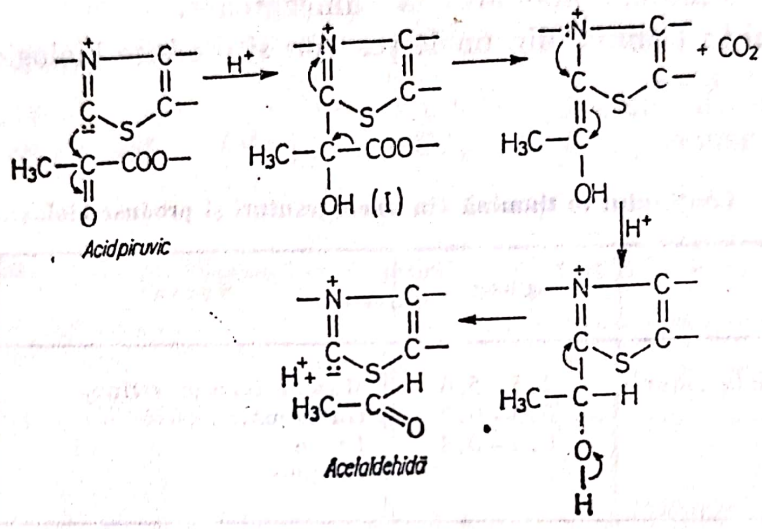
TPP participă cu funcţie de coenzimă în următoarele sisteme enzimatice: α-cetoacid decarboxilaze, α-cetoacid oxidaze, transcetolaze şi fosfocetolaze.

Scanned with OKEN Scanner

În mecanismul acestor reacții, locul de acțiune este C_2 din ciclul tiazol, poziție la care atomul de H disociază ca proton, rezultînd un carbanion;



Carbanionul format participă în reacția de decarboxilare a α-cetoacizilor. De exemplu, acidul piruvic este decarboxilat la acetaldehidă după următorul mecanism:



Compusul intermediar (I) format între carbanion și acidul piruvic este decarboxilat după o rearanjare adecvată a electronilor, cu eliberare de acetaldehidă și regenerarea carbanionului.

În deficitul de tiamină, metabolizarea acidului piruvic nu se mai produce, fapt ce determină acumularea acestuia în lichidele și țesuturile organismului.

Tiamina intervine și în alte procese biochimice ca: stimularea biosintezei lipidelor din glucide, reglarea metabolismului glucidic și ale unor procese generatoare de energie, stimularea activității acetilcolinei — mediator al transmiterii influxului în sistemul nervos vegetativ. Tiamina prezintă raporturi de sinergism cu alte vitamine ca riboflavina, acidul ascorbic și acizii pteroilglutamici.

Carența în tiamină se manifestă prin: polinevrite, astenie, tulburări gastrointestinale, slăbire și atrofie musculară, mișcări necoordonate; concomitent, se produce insuficiență cardiacă, iar la femele anestrus, dereglări de reproducție și lactație. Suinele sînt sensibile la carența în tiamină care determină, pe lîngă fenomenele menționate și dispnee, anorexie, vomismente. La păsări, hipovitaminoza B_1 se manifestă prin contracții ale musculaturii, tulburări de mers și opistotonus. Spre deosebire de suine și păsări la care apare mai frecvent, hipovitaminoza B_1 este mai rar întîlnită la rumegătoare, deoarece microflora din rumenul acestora sintetizează vitamina B_1 pe care o furnizează organismului.

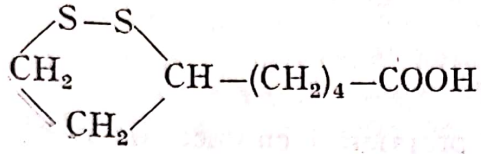
Scanned with OKEN Scanner

6.2.1.2. ACIDUL LIPOIC

Reprezintă o substanță căreia i se atribuie caracter de vitamină încadrată în grupul vitaminelor din complexul *B*.

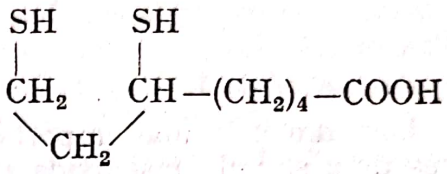
Distribuție. Se află răspîndit în diferite țesuturi; ficatul și drojdia constituie surse bogate în acid lipoic. Se găsește sub formă legată cu proteinele, din care este eliberat prin proteoliză. În țesuturi există sub formă oxidată cît și redusă.

Structură. Acidul lipoic este constituit din opt atomi de carbon și doi atomi de sulf, structură care îi conferă și denumirea de acid tioctic:

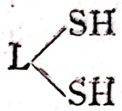


sau:

Acid lipoic forma oxidată

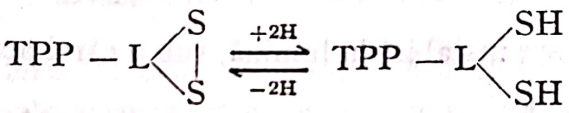


sau:



Acid lipoic forma redusă

Rol biochimic. Forma biologic activă cu funcție de coenzimă este lipotiaminpirofosfatul, care acționează ca un sistem redox;



Acidul lipoic funcționează ca o coenzimă în reacția de decarboxilare oxidativă a α-cetoacizilor. În complexele multienzimatice piruvat dehidrogenaza și α-cetoglutarat dehidrogenaza, la care acidul lipoic participă în corelație cu tiamina sub formă de TPP, enzimele conținînd acid lipoic catalizează generarea și transferul de grupări acil, proces în care acidul lipoic oxidat este redus și ulterior reoxidat.

6.2.1.3. RIBOFLAVINA (vitamina B_2)

Distribuție. Este o vitamină universal răspîndită. Predomină în plantele tinere care au capacitatea de a o sintetiza și în semințele germinate. Țesuturile și produsele animale bogate în riboflavină sînt: ficatul, rinichii, mușchiul cardiac, gălbenușul de ou, laptele, colostrul.

Conținutul mediu în riboflavină din unele țesuturi și produse biologice este prezentat în tabelul 6—5.

Tabelul 6—5

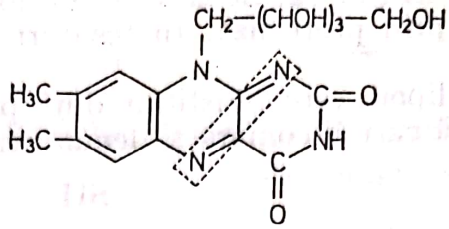
Conținutul mediu în riboflavină din unele țesuturi și produse biologice

Sursa	mg/100 g	Sursa	mg/100 g
Cereale	0,21	Ficat	3,0
Leguminoase	0,22	Mușchi	0,2
Drojdie	5,0	Ouă	0,4
Rinichi	2,0	Lapte	0,2
		Colostru	0,7

Scanned with OKEN Scanner

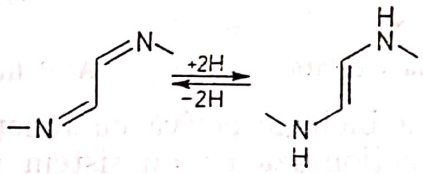
În general, riboflavina se află sub formă legată cu proteinele, constituind flavoproteide sau flavoenzime.

Structură. Riboflavina face parte din clasa flavine și este constituită din ciclul izoaloxazină la care este atașat un radical ribitil provenit din pentaalcoolul D-ribitol:



Riboflavina

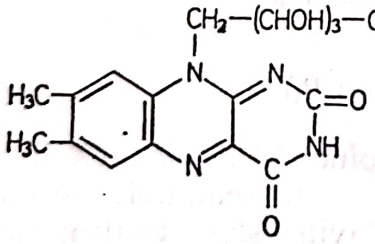
Una din cele mai importante proprietăți chimice ale riboflavinei este aceea de a se reduce și oxida reversibil; această proprietate se manifestă la nivelul grupării active:



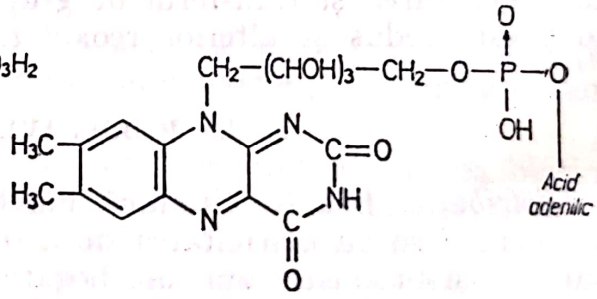
Forma oxidată *Forma redusă (leuco)*

Riboflavina este instabilă la lumină, sub a cărei acțiune își pierde activitatea biologică.

Rol biochimic. În celule, riboflavina se află aproape exclusiv sub formă combinată, fiind un constituent a două coenzime flavinice: *riboflavin monofosfat* (flavin mononucleotid — FMN) și *flavinadenin dinucleotid* (FAD) care funcționează ca transportori de hidrogen în sistemele de oxidoreducere biologică.



Flavin mononucleotid (FMN)



Flavin adenin dinucleotid (FAD)

De exemplu, în catena de respirație celulară asigură transferul de hidrogen (electroni) de la enzimele NADH-dependente și de la succinat la citocromi:

$$NADH + H^+ + 2\,(Fe^{3+})\ \text{cit.}\ c \underset{\text{Citocrom } c \text{ reductaza}}{\overset{\text{Flavoenzimă}}{\rightleftharpoons}} NAD^+ + 2(Fe^{2+})\ \text{cit.}c + 2H^+$$

$$HOOC-(CH_2)_2-COOH + 2(Fe^{3+})\ \text{cit.}\ c \underset{\text{Succinat dehidrogenaza}}{\overset{\text{Flavoenzimă}}{\rightleftharpoons}} HOOC-CH =$$

Acid succinic Acid fumaric

$$= CH-COOH + 2\,(Fe^{2+})\text{cit.}c + 2H^+$$

Riboflavina, sub formă de coenzimă FAD, participă în reacţiile de oxidoreducere catalizate de flavinenzime ca: *D*-aminoacid oxidaza, aldehid oxidaza, xantin oxidaza, succinat dehidrogenaza, lipoil dehidrogenaza, NAD^+-citocrom *c* reductaza, nitrat — şi nitrit reductaza.

Rolul riboflavinei se extinde şi asupra altor procese biochimice şi fiziologice. Astfel, intervine în biosinteza hemoglobinei, în chimismul procesului vizual (în asociere cu retinolii) transformînd radiaţiile luminoase cu lungime de undă mică în lumină cu lungime de undă mai mare, în creşterea animalelor tinere etc.

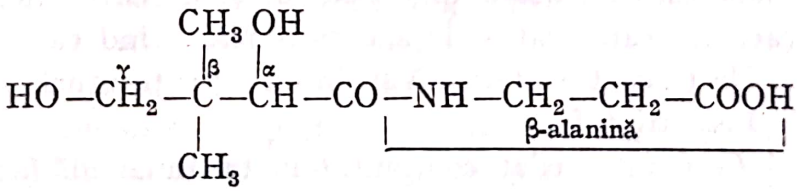
Carenţa în riboflavină se manifestă prin: dermatite şi induranţa pielii, colorarea buzelor în roşu aprins asociată cu umflarea şi crăparea lor (cheiloză), fisurarea ţesutului la colţurile buzelor (stomatită angulară), opacifierea şi invadarea corneei cu vase de sînge, conjunctivită infecţioasă (bovine), atrofia testiculelor, alterarea unor glande, tulburări nervoase etc.

Hipovitaminoza B_2 este mai frecventă la suine şi păsări. La suinele adulte apare inapetenţă, diaree, fătări premature, iar purceii sînt debili şi neviabili. La pui, se constată încetiniri sau opriri ale creşterii, tulburări locomotorii asociate cu răsucirea degetelor şi paralizii, iar la găini reducerea producţiei de ouă şi respectiv scăderea procentului de ouă eclozionate.

6.2.1.4. ACIDUL PANTOTENIC (vitamina B_3)

Distribuţie. Conform cu denumirea sa, este un compus ubicvitar răspîndit în toate organismele; datorită disponibilităţii acidului pantotenic în hrană, simptome ale carenţei sale apar destul de rar. În organismul animal este produs de flora bacteriană.

Structură. Acidul pantotenic este constituit din acidul α, γ-dihidroxi-β-dimetilbutiric şi β-alanină, unite printr-o legătură „peptidică" (amidă substituită):



Acid pantotenic (α, γ-dihidroxi-β-dimetilbutiril-β-alanină)

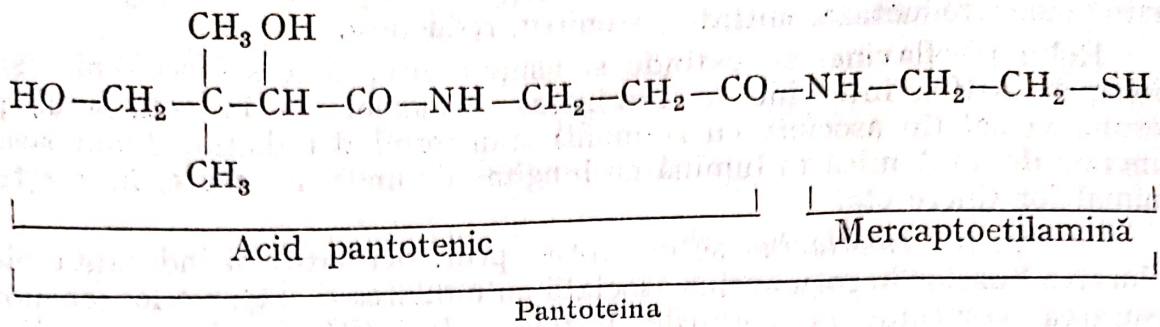
Posedă un atom de carbon asimetric, izomerul natural fiind cel de xtrogir.

Rol biochimic. Importanţa biochimică a acidului pantotenic derivă din faptul că el este un constituent structural al Coenzimei A (CoA—SH). Această coenzimă are un rol determinant în metabolismul glucidelor şi lipidelor, participă la biosinteza sterolilor şi a hormonilor corticosuprarenali, la metabolismul energetic şi la formarea legăturilor peptidice (detalii referitoare la structura, proprietăţile şi funcţiile Coenzimei *A* sînt prezentate în capitolele Enzime şi Bioenergetică).

Acidul pantotenic sub formă de *pantoteină* (acid pantotenic + mercaptoetilamină) participă la constituţia chimică a unei proteine denumită

Scanned with OKEN Scanner

Proteina Transportoare de grupări Acil (PTA-SH). Această proteină termostabilă și cu masă moleculară mică deține un rol important în biosinteza



acizilor grași. Prin gruparea tiol a pantoteinei, molecula PTA-SH funcționează ca un transportor de grupări acil formînd tioesteri la gruparea sa tiol, în mod analog cu Coenzima A (CoA-S-CO-R).

Carența în acid pantotenic se manifestă prin următoarele fenomene: dereglări ale unor procese metabolice în care participă CoA-SH, tulburări gastrointestinale, tulburări musculare și apetit scăzut (îndeosebi la suine), leziuni cutanate, dermatite, atrofia glandelor suprarenale. La puii de găină, penajul devine sărac, apar dermatite cu formarea unor cruste pe picioare, se produce lipirea pleoapelor și încetinirea creșterii. La suine, apar dermatite și depilații, dereglări în activitatea musculară și de reproducție, iar la gestante avorturi, mortalitate intrauterină și resorbție embrionară.

6.2.1.5. NICOTINAMIDA (vitamina PP)

Distribuție. Prezintă o largă răspîndire în țesuturile vegetale și animale. Ficatul, rinichiul și mușchiul sînt țesuturile cele mai bogate în nicotinamidă, care se află distribuită sub formă liberă sau combinată.

Nicotinamida este furnizată organismului și de către flora bacteriană din intestin care are capacitatea de a o sintetiza, avînd ca precursor ornitina; nicotinamida poate fi sintetizată și în diferite țesuturi animale, precursorul fiind însă triptofanul.

În tabelul 6—6 este redat conținutul în nicotinamidă (acid nicotinic) din unele țesuturi și produse biologice.

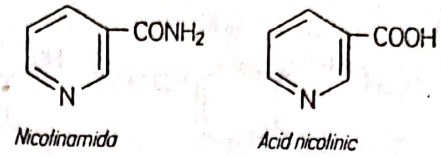
Tabelul 6—6

Conținutul în nicotinamidă (acid nicotinic)] din unele țesuturi și produse biologice

Sursa	mg/100 g	Sursa	mg/100 g
Orz	5,5	Ficat	10—27
Grîu	2,8—5,0	Rinichi	6—10
Porumb	2,0	Mușchi	3—10
Ovăz	0,9	Lapte	0,1— 0,5
Tărîțe	30—35		

Scanned with OKEN Scanner

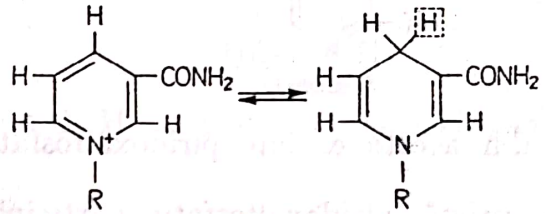
Structură. Nicotinamida derivă din acidul nicotinic; ambele substanțe posedă activitate vitaminică și poartă denumirea generică de niacină.



Nicotinamida *Acid nicotinic*

Nicotinamida este una din cele mai stabile vitamine.

Rol biochimic. Nicotinamida îndeplinește o funcție biochimică esențială în calitate de componentă a structurii coenzimelor nicotinamidadenindinucleotidice, NAD^+ (*N*icotinamid *A*denin *D*inucleotid) și $NADP^+$ (*N*icotinamid *A*denin *D*inucleotid *P*hosfat). NAD^+ și $NADP^+$, implicit nicotinamida, funcționează drept coenzime ale enzimelor denumite dehidrogenaze care catalizează reacții de oxidoreducere. Aceste reacții se realizează prin transfer de hidrogen (electroni) la nivelul componentei nicotinamidă din structura coenzimelor NAD^+ și $NADP^+$:



NAD^+ ($NADP^+$) *oxidat* NADH (NADPH) *redus*

În general, NADH cedează H enzimelor din catena de respirație celulară, pe cînd NADPH îl cedează sistemelor enzimatice care intervin în reacțiile de biosinteză (structura, funcțiile și mecanismul de acțiune al acestor coenzime sînt prezentate în capitolul 5. Enzime).

Carența în nicotinamidă se manifestă prin simptome ca: iritabilitate, anxietate, lipsă de apetit, diaree, pierdere în greutate, înroșirea, întărirea și uscarea pielii (în special a părților expuse la lumină), umflarea și înroșirea limbii. Ansamblul manifestărilor patologice determinate de deficitul în nicotinamidă constituie boala denumită pelagră.

Porumbul conține analogi structurali ai triptofanului care acționează ca inhibitori competitivi, blocînd astfel conversia triptofanului în acid nicotinic și respectiv în nicotinamidă.

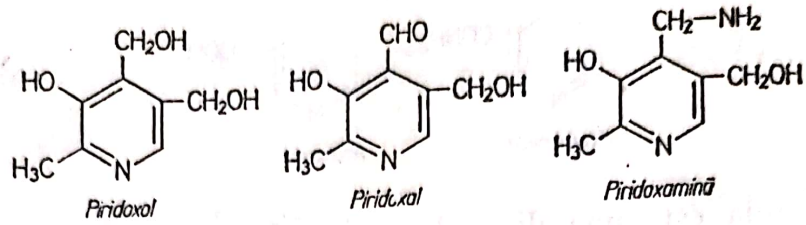
6.2.1.6. PIRIDOXINA (vitamina B_6)

Distribuție. Prezintă o largă răspîndire în organismele vegetale și animale; flora bacteriană din intestinul gros constituie o sursă de vitamină B_6 pentru organism.

Mușchiul cardiac (1,6 mg/100 g), ficatul (2,0 mg/100 g), mușchiul scheletic (1 mg/100 g), laptele (1,5 mg/l) sînt bogate în piridoxină.

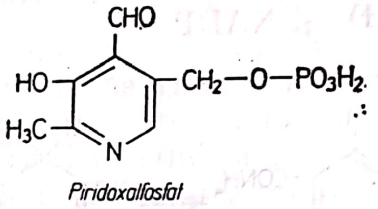
Scanned with OKEN Scanner

Structură. Denumirea generică de vitamină B_6 include un număr de trei compuși derivați de la piridină, și anume: *piridoxol, piridoxal* și *piridoxamină*:



Se presupune că în țesuturi, piridoxolul și piridoxamina sînt convertite în piridoxal.

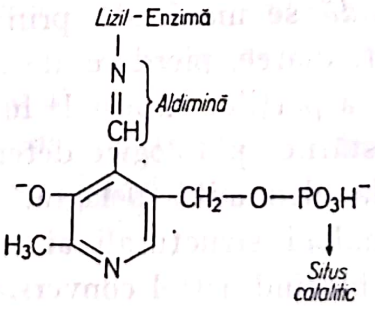
Rol biochimic. Derivatul fosforilat al piridoxalului — piridoxalfosfatul — îndeplinește rol de coenzimă a unor enzime care catalizează reacții importante în metabolismul aminoacizilor ca: *transaminarea, decarboxilarea* și *racemizarea*. Aceste reacții sînt catalizate fiecare de către o enzimă specifică,



însă pentru fiecare din aceste enzime piridoxalfosfatul funcționează ca o coenzimă.

În calitate de coenzimă, piridoxalfosfatul participă și la alte reacții specifice ale unor aminoacizi ca: interconversia serinei și glicocolului, sinteza triptofanului, transformarea triptofanului în acid nicotinic; de asemenea, piridoxalfosfatul intervine în biosinteza hemului și stimulează hematopoeza.

S-a demonstrat că în toate enzimele care implică participarea piridoxalfosfatului drept coenzimă, acesta se leagă labil la gruparea amină a lizinei (sub formă de aldimină) din structura enzimei respective.



Carența în piridoxină produce: dermatite, anemii severe, uneori convulsii asociate cu tulburări profunde ale sistemului nervos central, diminuarea ritmului de creștere, scăderea hemoglobinei, hipercolesterolemie, creșterea în greutate a unor organe (ficat, rinichi, suprarenale etc.). Unele tuberculostatice ca hidrazida acidului nicotinic acționează ca antivitamine, generînd nevrite periferice și anemie.

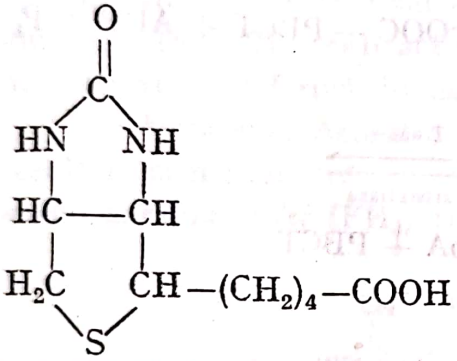
Spre deosebire de rumegătoare la care microflora ruminală sintetizează vitamina B_6, hipovitaminoza B_6 este mai frecventă la suine și păsări. La suine, se manifestă prin încetarea creșterii, anemie, apetit redus, iar la păsări prin diminuarea procentului de ouat.

Scanned with OKEN Scanner

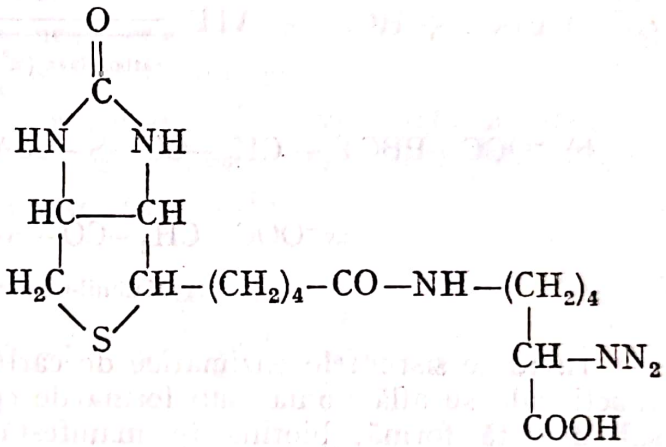
Distribuție. Este un constituent universal răspîndit: microorganisme, drojdii, organisme vegetale și animale. Biotina predomină cantitativ în țesuturile hepatic (100—250 μg/100 g) și renal. Gălbenușul de ou este bogat în biotină (50 μg/100 g), pe cînd laptele are un conținut mai mic (2—10 μg/100 g).

Ca sursă de biotină pentru organismul animal este și flora bacteriană din intestinul gros capabilă să sintetizeze biotina.

Structură. Este constituită dintr-un ciclu tetrahidroimidazol și un ciclu tetrahidrotiofenic substituit. Biotina se găsește în organism sub formă liberă și, mai ales, sub formă de *biocitină* în care biotina este legată de proteine prin intermediul lizinei:



β-Biotina



Biocitina

Rol biochimic. Biotina îndeplinește funcția de coenzimă, participînd în reacțiile enzimatice de transfer a grupării carboxil, respectiv în reacțiile de carboxilare și decarboxilare a cetoacizilor.

De exemplu, transformarea acidului piruvic în acid oxalilacetic sau carboxilarea acetil — Coenzimei *A* pentru a forma malonil — Coenzima A necesară în biosinteza acizilor grași sînt reacții catalizate de enzime denumite carboxilaze care au biotina drept coenzimă:

$$CH_3-CO-COOH + CO_2 \rightleftharpoons HOOC-CH_2-CO-COOH$$

Acid piruvic — Acid oxalilacetic

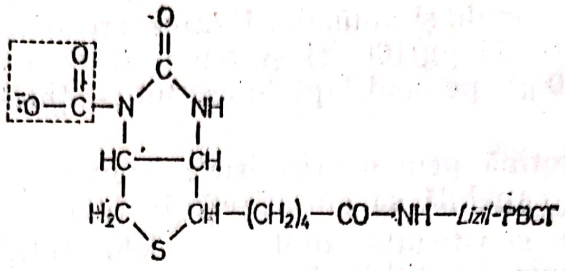
$$CH_3-CO-S-CoA + CO_2 \rightleftharpoons HOOC-CH_2-CO-S-CoA$$

Acetil-Coenzima A — Malonil-Coenzima A

În reacțiile de carboxilare, biotina funcționează ca un transportor de $CO_2(COO^-)$. Mecanismul de reacție implică participarea unei proteine cu masă moleculară mică (~20000) denumită *P*roteină-*B*iotin-*C*arboxil-*T*ransportoare (PBCT); această proteină leagă covalent 1 mol de biotină prin intermediul lizinei (lizil).

Scanned with OKEN Scanner

În prezența enzimei biotin carboxilaza, PBCT este carboxilată prin fixarea CO_2, formînd astfel un complex intermediar carboxil-biotinil-proteină:



În următoarea etapă a reacției de carboxilare, gruparea COO^- este transferată pe o moleculă acceptoare de acetil-Coenzima A, etapă catalizată de transcarboxilază:

a) $PBCT + HCO_3^- + ATP \underset{\text{carboxilaza } (M^{2+})}{\overset{\text{Biotin—}}{\rightleftharpoons}} {}^-OOC - PBCT + ADP + P_i$

b) $^-OOC-PBCT + CH_3-CO-S-CoA \underset{\text{— carboxilaza}}{\overset{\text{Trans—}}{\rightleftharpoons}}$

$\rightleftharpoons {}^-OOC-CH_2-CO-S-CoA + PBCT$

Malonil-Coenzima A

În toate sistemele enzimatice de carboxilare, biotina în stare potențial funcțională se află numai sub formă de complex proteic analog cu PBCT; sub această formă, biotina își manifestă capacitatea de a fixa reversibil CO_2 necesar reacțiilor de carboxilare, și respectiv de transcarboxilare.

Biotina îndeplinește și alte funcții biochimice. Astfel, participă la reacțiile de dezaminare a unor aminoacizi și la cele de hidrogenare a acizilor grași nesaturați, intervine în biosinteza unor acizi ca acidul aspartic și acidul oleic, favorizează acumularea lipidelor în ficat.

Carența în biotină este semnalată numai în cazuri relativ rare. Efecte carențiale s-au constatat la om și animale hrănite cu ouă crude. Albușul de ou conține o proteină bazică secretată de mucoasa oviductului — avidina — care posedă o remarcabilă afinitate pentru biotină; avidina blochează biotina sub forma unui compus stabil inactiv, acționînd ca un inhibitor al sistemelor biotin-dependente.

Simptomele carenței se manifestă prin: dermatite (în special la pui), leziuni cutanate la purcei, dermatoză seboreică, mișcări insuficient coordonate.

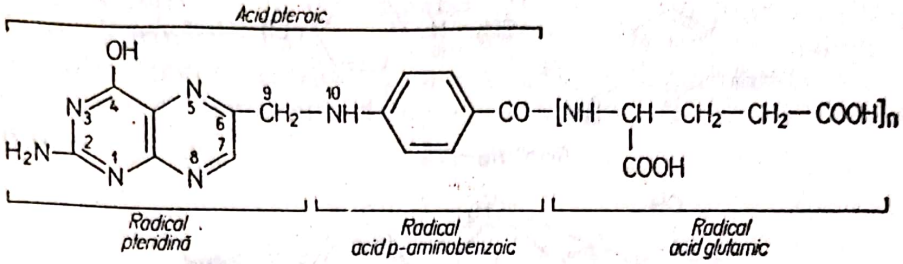
6.2.1.8. ACIZII PTEROILGLUTAMICI (folacina)

Distribuție. Se găsesc răspîndiți în plantele verzi care au capacitatea de a-i sintetiza. Sînt sintetizați, de asemenea, și de către flora bacteriană din intestinul gros sau din rumen. În organismul animal, ficatul este cel mai bogat țesut în acizi pteroilglutamici.

Structură. Acizii pteroilglutamici, incluzînd acidul folic și derivații săi, sînt denumiți generic folacină.

Scanned with OKEN Scanner

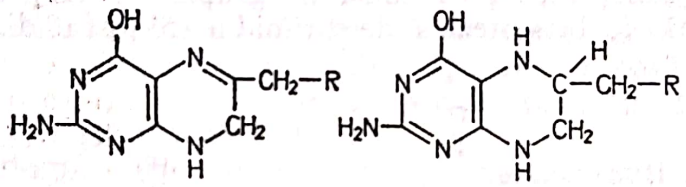
Acidul folic (*F*) sau acidul pteroilmonoglutamic este constituit dintr-un ciclu pterină legat de acidul glutamic prin intermediul acidului para-aminobenzoic.



Acid folic (n = 1)

În țesuturile vii, acidul folic sau acidul pteroilmonoglutamic ($n=1$) este însoțit de derivații săi — acidul pteroiltriglutamic ($n=3$) și pteroilheptaglutamic ($n=7$); sub acțiunea unor enzime denumite conjugaze, acești derivați se transformă în acid pteroilmonoglutamic.

Rol biochimic. Acidul folic ca atare are rol de vitamină, însă derivații rezultați prin reducerea sa în celule, și anume *acidul dihidrofolic* (FH_2) și *acidul tetrahidrofolic* (FH_4) funcționează ca coenzime.



Acidul dihidrofolic (FH_2) Acidul tetrahidrofolic (FH_4)

Enzima folic reductaza reduce acidul folic (F) la acid dihidrofolic (FH_2); într-o etapă ulterioară, intervine enzima dihidrofolic reductaza care reduce FH_2 la acid tetrahidrofolic (FH_4). În ambele reacții, agentul de reducere este coenzima NADPH:

$$a)\ F + NADPH + H^+ \rightarrow FH_2 + NADP^+$$

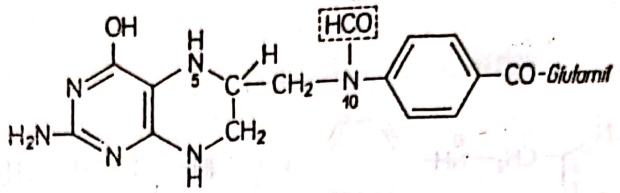
$$b)\ FH_2 + NADPH + H^+ \rightarrow FH_4 + NADP^+$$

Acidul tetrahidrofolic, în calitate de coenzimă, îndeplinește un rol central funcționînd ca transportor al fragmentelor cu un atom de carbon („C_1-activ"), cum este radicalul *formil* (HCO–). Inițial, acidul formic (HCOOH) este activat în prezența ATP și radicalul formil se adiționează la atomul de azot din poziția 10 a FH_4, formînd compusul formil–N_{10}–FH_4 care funcționează ca transportor de grupare formil respectiv ca fragment cu un atom de carbon:

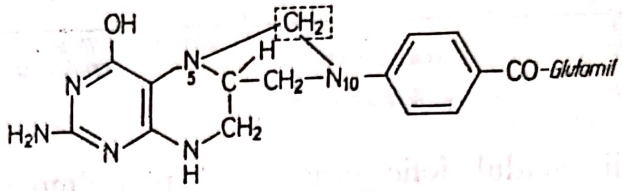
$$FH_4 + ATP + H - COOH \rightarrow formil - N_{10} - FH_4 + ADP + P_i$$

Scanned with OKEN Scanner

Compusul formil—N_{10}—FH_4 suferă, final, o închidere de ciclu cu formarea unui alt compus, metilen —N_{5-10}—FH_4:



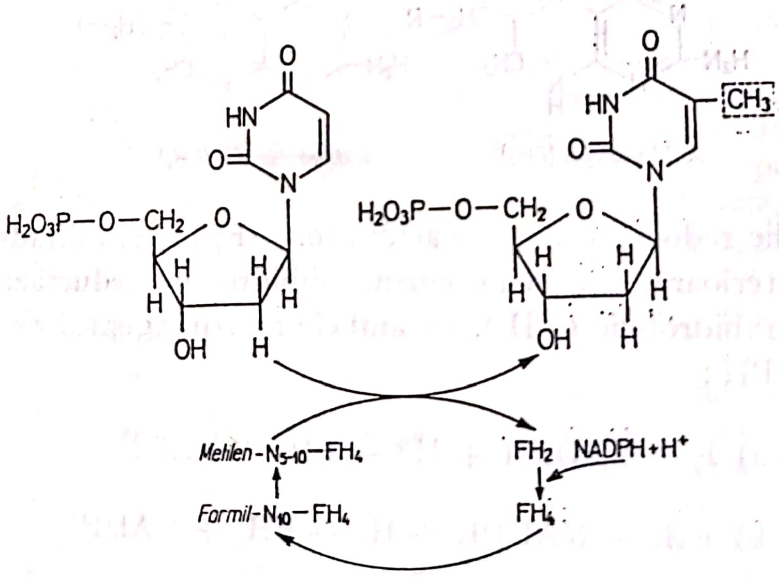
Formil-N_{10}—FH_4



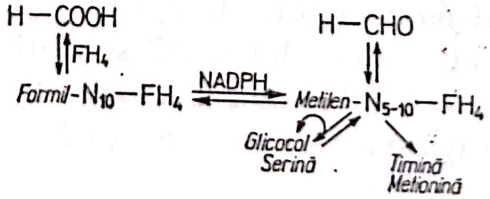
Metilen-N_{5-10}—FH_4

În calitate de coenzimă, FH_4 participă la metabolismul fragmentelor cu un atom de carbon (HCO—, —CH_3, —CH_2OH) pe care le activează și le transferă în diferite reacții de biosinteză, după modelul menționat. Astfel, FH_4 intervine în biosinteza bazelor purinice și pirimidinice, a acizilor nucleici, a hemului, a serinei (din glicocol), a histidinei, a colinei, în metilarea ciclului pirimidinic pentru a forma timina.

De exemplu, funcția FH_4 ca sursă de grupare — CH_3 este redată în următoarea schemă de biosinteză a deoxitimidin - 5'-fosfat din deoxiuridin--5'-fosfat:



Rolul esențial pe care îl deține FH_4 în metabolismul celular poate fi redat prin următoarea schemă generală:



FH_4 participă, de asemenea, în anumite reacții ca sursă de atomi de hidrogen. Derivații acidului folic intervin în producerea eritrocitelor normale

de către măduva osoasă, previn anemia și influențează pozitiv diviziunea celulară, creșterea și funcția de reproducție.

Carența în acizi pteroilglutamici produce dereglări în hematopoeză însoțite de anemia megaloblastică; se produc, de asemenea, tulburări gastrointestinale și infecții, iar la pui leucoză și dereglări în formarea și pigmentarea penajului. Formarea FH_4 este inhibată competitiv de analogi structurali ai acidului folic (agenți antifolici); acești agenți sînt utilizați în tratamentul unor boli maligne ca leucemia, deoarece ei inhibă biosinteza timinei și astfel a ADN-ului.

6.2.1.9. CORIONIDE (vitamine B_{12})

Distribuție. Se găsesc răspîndite numai în organismul animal și în microorganisme pentru care constituie un factor de creștere. Țesuturile animale bogate în aceste vitamine sînt ficatul și rinichii (pînă la 120 μg/100 g), cordul și suprarenalele. Gălbenușul de ou conține în jur de 100 μg/100 g, iar laptele 0,1—0,4 μg/l. Microorganismele din rumen și intestinul gros constituie o sursă importantă de vitamine B_{12} pentru organism.

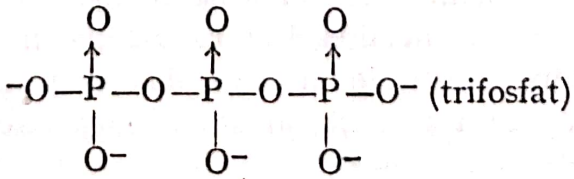
Structură. Prin denumirea de *corinoide* sau *cobalamine* se desemnează un grup de compuși biologic activi care conțin în structura lor nucleul corinic. Acest nucleu este constituit din patru cicluri pirol parțial în stare redusă, prezentînd analogie structurală cu nucleul porfirinic din hem. Nucleul corinic posedă în centrul său un atom de *cobalt* hexacoordinat de care se leagă 5—6 dimetilbenzimidazol și alți substituenți; molecula mai conține un radical de riboză fosforilată în poziția C_3', care se leagă cu aminopropanolul atașat la o catenă laterală de la un ciclu pirol; pe fiecare ciclu pirol sînt grefați diferiți substituenți chimici.

Din grupa corinoidelor fac parte diferiți reprezentanți care se deosebesc prin unele detalii structurale: *cobalamina* în care la atomul central de cobalt se leagă prin covalență coordinativă dimetilbenzimidazolul, *cianocobalamina (vitamina B_{12})* care posedă gruparea — CN legată de atomul de cobalt (fig. 6.1), *hidroxicobalamina* (B_{12b}) cu o grupare — OH legată de atomul de cobalt, *coenzima B_{12}* în care atomul de cobalt se leagă direct cu atomul C_5' al adenozinei. Există și alți derivați de la vitamina B_{12} în care componenta structurală dimetilbenzimidazol este substituită cu alte baze azotate.

În organism, vitamina B_{12} se găsește predominant sub formă de coenzimă denumită coenzima B_{12}. Această coenzimă rezultă prin conversia vitaminei B_{12} a cărei grupare — CN este înlocuită cu radicalul 5-'adenozil. S-a pus în evidență și o coenzimă denumită pseudo-vitamina B_{12} în care componenta dimetilbenzimidazol este înlocuită cu adenină.

Rol biochimic. Funcțiile biochimice ale vitaminei B_{12} sînt îndeplinite de către coenzima B_{12}; aceasta se biosintetizează din vitamina B_{12} în prezența unei coenzim — B_{12} sintetaze specifice:

$$B_{12}(Co^{2+}) + \text{sistem reducător} + ATP \rightarrow \text{Coenzima } B_{12} +$$



Sistemul reducător este complex, implicînd participarea unui ansamblu proteic NADH — flavoproteină —(—S—S—).

Spre deosebire de sistemele bacteriene în care coenzima B_{12} participă la realizarea mai multor reacții biochimice distincte, în organismul animal

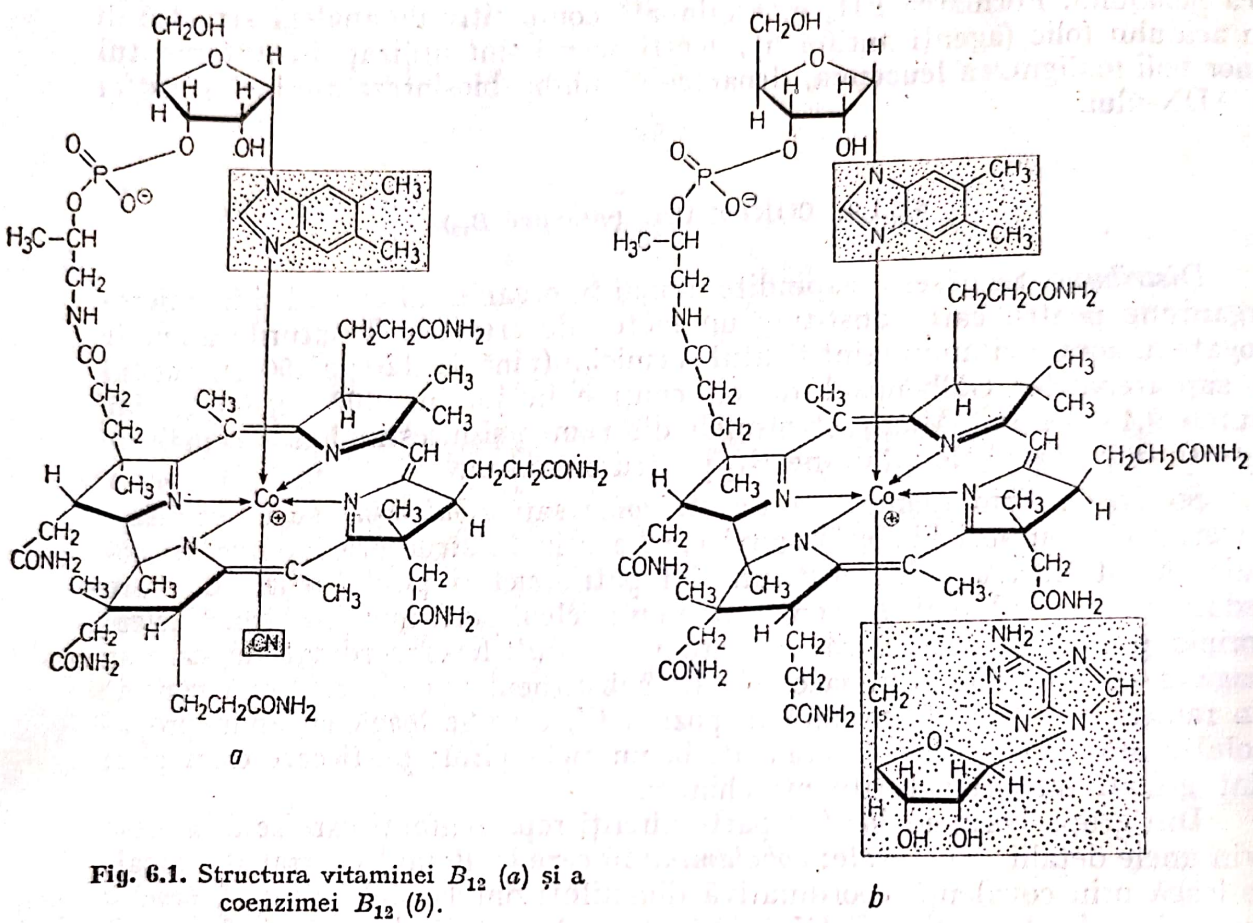
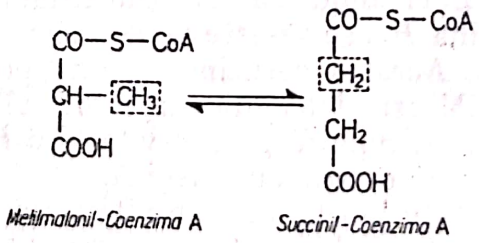


Fig. 6.1. Structura vitaminei B_{12} (*a*) și a coenzimei B_{12} (*b*).

coenzima B_{12} intervine în reacția de transformare a metilmalonil — Coenzimei *A* în succinil — Coenzima *A*, reacție catalizată de enzima metilmalonil mutaza:



Metilmalonil-Coenzima A *Succinil-Coenzima A*

Vitamina B_{12} prezintă un spectru larg de acțiune. Astfel, intervine în reacțiile de metilare și carboxilare, este necesară în primele stadii ale biosintezei ADN (în corelație cu acidul folic), participă la biosinteza hemului, influențează biosinteza proteinelor, stimulează anabolismul proteinelor și al lipidelor; sub aspect fiziologic, manifestă un rol esențial în procesul de hematopoeză prevenind anemia, constituie un factor de creștere pentru organismele tinere, favorizează diviziunea celulară, menține integritatea celulei nervoase etc.

Scanned with OKEN Scanner

Carența în corinoide provoacă *anemia pernicioasă*. În absența vitaminei B_{12} sau a acidului folic, proeritroblaștii măduvei osoase nu se mai pot maturiza în normoblaști, ci dau naștere unor celule imature numite megaloblaști; acestea pierd ulterior nucleii și astfel apar celule mari, deformate de tip megaloblastic. Deficitul în cobalamine provoacă, de asemenea, demielinizări ale sistemului nervos și întîrzieri în creșterea organismelor tinere.

Efectele carenței în cobalamine și, în special, instalarea anemiei pernicioase pot fi consecința unor defecte de absorbție. Într-adevăr, absorbția acestor vitamine este condiționată de existența unei glicoproteide elaborată de mucoasa gastrică și care formează un complex cu cobalaminele denumit „factor intrinsec"; numai sub această formă, cobalaminele — care reprezintă *„factorul extrinsec"* — pot fi transportate și absorbite. Absența sau starea denaturată a glicoproteidei gastrice constituie cauza primară a anemiei pernicioase.

Animalele hrănite cu furaje cultivate pe soluri sărace în cobalt sînt predispuse la carență în vitamina B_{12}, microflora tubului digestiv neputînd astfel sintetiza această vitamină. Fenomenele carențiale sînt mai frecvente la suine și păsări. Astfel, la suine apar stomatite, anemie (mai ales în gestație), vomismente, tulburări musculare și locomotorii, oprirea creșterii purceilor, iar la păsări anemii pronunțate, încetarea creșterii, diminuarea procentului de ouă eclozionate.

6.2.1.10. ACIDUL PANGAMIC (vitamina B_{15})

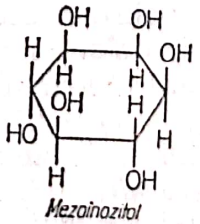
Este distribuit în unele plante și produse vegetale, precum și în țesutul hepatic. Structura sa provine din acid gluconic și dimetilglicocol:

$$HOOC-(CHOH)_4-CH_2-O-CO-CH_2-N(CH_3)_2$$

Datorită grupărilor metil labile pe care le conține, i se atribuie un rol în procesele de metilare și transmetilare; participă astfel ca donator de grupări metil în biosinteza unor biomolecule ca: metionina, colina, adrenalina, creatina etc. Intervine, de asemenea, în activarea respirației celulare și manifestă efecte antianoxice.

6.2.1.11. MEZOINOZITOLUL

Este răspîndit practic în toate țesuturile animale și vegetale. Ca structură este un hexahidroxiciclohexan. Participă la structura unor lipide complexe denumite inozitolfosfatide.



Mezoinozitol

Manifestă o acțiune lipotropă și intervine în metabolismul colesterolului prevenind acumularea acestuia în ficat. Deși posedă o activitate lipotropă

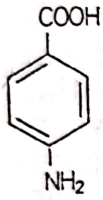
Scanned with OKEN Scanner

mai scăzută decît a colinei, potențează totuși activitatea lipotropă a acesteia.

Carența în mezoinozitol produce căderea părului la unele animale (alopecie) și dermatite în jurul ochilor, iar la păsări anemie și încetinirea creșterii. Este un factor de creștere pentru numeroase microorganisme.

6.2.1.12. ACIDUL PARA-AMINOBENZOIC (PABA)

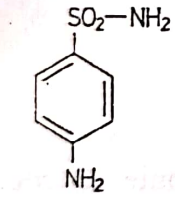
Este răspîndit în plante, țesuturi animale și microorganisme, existînd sub formă liberă și combinată cu anumiți aminoacizi sau ca constituent al acizilor pteroilglutamici. Țesuturi animale bogate în PABA sînt rinichii (6 μg% g), ficatul (2,6 μg% g), mușchiul (0,6 μg% g); în cantități mai mici se află în gălbenușul de ou (0,6 — 0,8 μg% g) și în lapte (0,1 μg% g). Flora microbiană din intestinul gros constituie o sursă bogată de PABA pentru organism.



PABA

Rol biochimic. PABA participă la formarea acizilor pteroilglutamici, intervenind în procesul de creștere (pui de găină, microorganisme), stimulează biosinteza acidului pantotenic și a biotinei, intervine în metabolismul fierului, favorizînd utilizarea și transportul acestuia la organele hematopoetice, interacționează cu sulfonamidele administrate, în raport cu care manifestă o acțiune antagonistă.

Sulfonamidele (sulfamide) prezintă analogie structurală cu PABA și se comportă ca *antivitamine*; ele exercită un efect bacteriostatic, inhibînd creșterea bacteriilor. Mecanismul prin care se realizează acest efect se bazează pe proprietatea sulfonamidelor de a substitui PABA în structura acizilor pteroilglutamici; acești acizi — cu constituția chimică astfel modificată — nu își mai pot exercita acțiunea lor de stimulare a creșterii bacteriilor, deoarece modifică evoluția normală a unor căi metabolice. Proprietatea sulfonamidelor de a se comporta ca antivitamine PABA stă la baza utilizării lor în combaterea bolilor infecțioase.



p-Aminobenzensulfonamida

6.2.1.13. COLINA

Colina ($HO—CH_2—CH_2—N^+(CH_3)_3$) este distribuită în toate țesuturile animale și vegetale; organismul animal are capacitatea de a sintetiza colina, însă aportul exogen de colină este necesar mai ales pentru animalele tinere, în creștere. Țesutul nervos, ficatul, rinichiul, gălbenușul de ou, laptele și colostrul se disting printr-un conținut mai ridicat în colină.

Rol biochimic. Colina este un constituent chimic al structurii fosfolipidelor cu azot; favorizează metabolismul acizilor grași și manifestă acțiune lipotropă, facilitînd transportul lipidelor și prevenind stocarea în ficat a acestora în cantități mari; stimulează oxidarea în ficat a gliceridelor; participă la formarea *acetilcolinei* ($H_3C — CO — O — CH_2 — CH_2 — N^+(CH_3)_3$), mediator chimic în transmiterea influxului în sistemul nervos parasimpatic; funcționează ca o substanță *donatoare de grupări* $— CH_3$ avînd — în corelație cu metionina — un rol important în procesele metabolice de transmetilare; participă la sinteza butirilcolinei în sistemul nervos; constituie un factor necesar pentru creșterea animalelor și microorganismelor.

Scanned with OKEN Scanner

Carența în colină determină încetinirea creșterii animalelor, infiltrația grasă a ficatului, degenerarea hemoragică a rinichilor, tulburări ale activității musculare, diminuarea producerii de lapte și de ouă. La suine și păsări, apar tulburări de creștere și a funcțiilor de reproducție, iar la pui boala perozis asociată cu tulburări locomotorii. Simptomele carențiale apar rar, deoarece fosfatidilcolina (lecitina) care conține colină este răspîndită practic în toate țesuturile vegetale și animale.

Complexul B de vitamine. Sub denumirea de „complex" se desemnează ansamblul de vitamine hidrosolubile constituit din: *tiamină, acid lipoic, riboflavină, acid pantotenic, nicotinamidă, piridoxină, biotină, acizi pteroilglutamici, corinoide, acid pangamic, mezoinozitol, acid p-aminobenzoic, colină.*

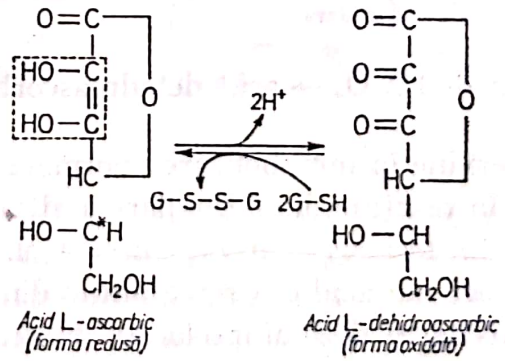
Vitaminele din complexul *B* prezintă următoarele *caracteristici generale*: sînt solubile în apă sau în mediu apos; unele îndeplinesc funcția de coenzime, participînd astfel la efectuarea diferitelor reacții biochimice catalizate de enzime; acționează ca activatori stimulînd diferite procese metabolice și intervenind în reglarea acestor procese; constituie factori de creștere pentru microorganisme; majoritatea pot fi sintetizate de către microflora bacteriană din rumen și intestinul gros, o parte din necesarul organismului în aceste vitamine fiind furnizată pe această cale.

În categoria vitaminelor hidrosolubile sînt integrate și alte vitamine care nu aparțin complexului *B*, și anume: acidul ascorbic și bioflavonoidele.

6.2.1.14. ACIDUL ASCORBIC (vitamina C)

Distribuție. Prezintă o largă răspîndire în plantele verzi, în special legume (10 — 100 mg %) și fructe (25 — 200 mg %). Conținutul în acid ascorbic al produselor vegetale se diminuează gradat în cursul păstrării lor. Acidul ascorbic este prezent în toate lichidele și țesuturile organismului animal; glandele suprarenale, hipofiza, gonadele, corpul galben sînt țesuturile cele mai bogate în acid ascorbic. Conținutul laptelui proaspăt este de 0,6 — — 8 mg/100 ml, iar al plasmei sanguine de 0,5 — 2 mg/100 ml. În urină, acidul ascorbic apare cînd concentrația în plasmă atinge valori de aproximativ 1 mg/100 ml.

Structură. Acidul ascorbic prezintă analogie structurală cu hexozele, fiind lactona acidului 2,3-endiol-L-gulonic:

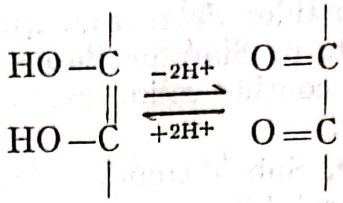


Acid L-ascorbic (forma redusă) — *Acid L-dehidroascorbic (forma oxidată)*

Acidul ascorbic posedă un atom de carbon asimetric; numai izomerul L, și respectiv forma redusă prezintă activitate biologică. Caracterul acid îi este conferit de existența în molecula sa a grupării endiol care disociază cu punere

Scanned with OKEN Scanner

în libertate de ioni H^+, acidul L-ascorbic transformîndu-se în forma sa oxidată acidul L-dehidroascorbic:



Acidul ascorbic se comportă ca un puternic agent reducător. Acidul L-dehidroascorbic poate fi redus la acid L-ascorbic de către diferiți agenți reducători și, în primul rînd, de către glutationul redus (G-SH). Acidul ascorbic și acidul dehidroascorbic constituie un important sistem reversibil de oxidoreducere în organism. Forma cantitativ predominantă în organism este cea redusă, formă protejată contra oxidării de către glutation, cisteină și acid adenilic. Lumina, oxigenul și unele metale (cupru) oxidează rapid acidul ascorbic.

Acidul L-ascorbic poate fi biosintetizat din glucoză de către organismul animal, cu excepția omului, primatelor și cobaiului. Incapacitatea acestor mamifere de a sintetiza acidul ascorbic se datorește absenței din ficat a enzimei L-gulonoxidaza care intervine în ultima etapă a secvenței de reacții:

D-glucoză → lactona acidului L-glucuronic → lactona acidului L-gluconic → acid L-ascorbic. Lipsa enzimei nu permite transformarea finală a lactonei acidului L-gluconic în acid L-ascorbic.

Rol biochimic. Participarea acidului ascorbic în diferite procese biochimice este corelată cu proprietățile sale reducătoare, respectiv cu capacitatea de a forma un sistem reversibil de oxidoreducere.

Astfel, acidul ascorbic se comportă în unele sisteme enzimatice ca un transportor de hidrogen, intervenind în reacțiile catalizate de oxidoreductaze (dehidrogenaze, catalaze, peroxidaze, citocromoxidaza etc.). În respirația celulară, acidul ascorbic reacționează cu oxigenul, reducîndu-l la apă sau apă oxigenată:

$$\text{acid ascorbic} + O_2 \xrightarrow[\text{oxidaza}]{\text{acid ascorbic}} \text{acid dehidroascorbic} + H_2O_2$$

$$\text{acid ascorbic} + 1/2\ O_2 \rightarrow \text{acid dehidroascorbic} + H_2O$$

Acidul ascorbic intervine în metabolizarea normală a unor aminoacizi ca tirozina și fenilalanina, în reacțiile de hidroxilare a altor aminoacizi, compuși aromatici și acizi grași, în formarea în organism a unor compuși cetonici ca hormonii 17-cetosteroizi sau acidul α-cetoglutaric din acidul citric; stimulează, de asemenea, activitatea dezaminazelor și a altor enzime, a glicogenogenezei hepatice și musculare.

Acidul ascorbic deține un rol esențial în biosinteza mucopoliglucidelor constituente ale substanței celulare fundamentale, precum și în formarea fibrelor de colagen, intervenind în conversia prolinei la hidroxiprolină nece-

Scanned with OKEN Scanner

sară biosintezei moleculei de colagen; totodată, intervine în formarea țesutului osos și asigură funcționarea normală a osteoblaștilor. Un anumit rol i se atribuie acidului ascorbic în funcția de reproducție, deoarece participă la reacțiile de biosinteză a hormonilor sexuali.

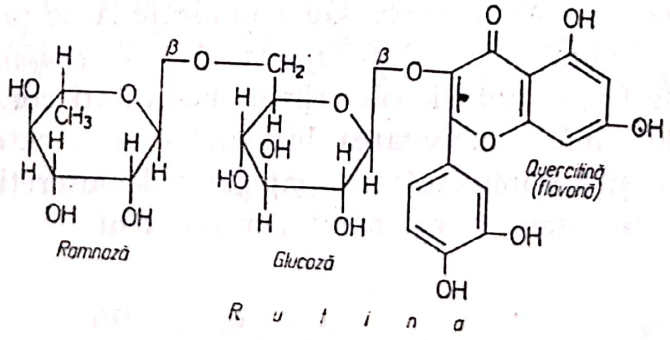
Acidul ascorbic îndeplinește și alte roluri ca: acțiune antitoxică, mărirea rezistenței organismului față de infecții, favorizarea coagulării sîngelui, transportul și depozitarea fierului, precum și în fiziologia ochiului.

Carența în acid ascorbic provoacă boala denumită *scorbut*, caracterizată prin: sîngerări ale gingiilor, modificări ale țesutului conjunctiv și ale structurii fibrelor de colagen, formarea de mucopoliglucide cu structură anormală, alterări în procesul de formare a oaselor și dinților care capătă un caracter spongios, sîngerări ale pielii. Simptomele scorbutului sînt anulate prin administrare de acid ascorbic. La animalele de fermă carența se manifestă mai rar, vitamina C putînd fi sintetizată din glucoză de către organism. Hrănirea cu furaje incorect recoltate și conservate poate determina, mai ales la sfîrșitul iernii, apariția hipovitaminozei *C*. Această hipovitaminoză diminuă sinteza progesteronei și favorizează avorturile, retenții placentare, involuții uterine, afectînd astfel fertilitatea.

6.2.1.15. BIOFLAVONOIDE (vitamine P)

Distribuție. Sînt substanțe de origine vegetală care, în organismul animal, acționează asupra permeabilității vaselor sanguine, de unde și denumirea de vitamine *P* (ale permeabilității).

Structură. Sînt derivați de la *flavonă* și prezintă constituția unor glicozizi. Astfel, *rutina*, unul din reprezentanții vitaminelor *P*, este constituită dintr-o componentă diglucidică formată din glucoză și ramnoză și dintr-o componentă neglucidică (aglicon) formată dintr-o flavonă (quercitină):



Rutina

Rol biochimic și fiziologic. Bioflavonoidele stimulează biosinteza adrenalinei și asigură permeabilitatea vaselor sanguine și rezistența acestora la rupere; manifestă acțiune farmacodinamică, intensificînd tonusul cardiac și scăzînd tensiunea arterială. Li se atribuie un rol posibil în reacțiile de oxido-reducere, participînd ca transportori de hidrogen. În general, activitatea biologică a bioflavonoidelor este corelată cu cea a acidului ascorbic.

Carența în bioflavonoide se manifestă prin fragilitatea vaselor sanguine, tulburări ale permeabilității acestora, hemoragii locale.

Scanned with OKEN Scanner

6.2.2. VITAMINE LIPOSOLUBILE

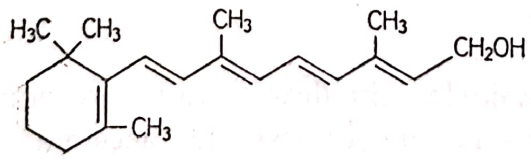
6.2.2.1. RETINOLI (vitamine A)

Distribuție. Deși se formează în organismul animal, retinolii au ca precursori principali provitaminele denumite carotine, care sînt de origine exclusiv vegetală. Plantele nu sintetizează retinoli, prezența acestora în diferite țesuturi animale rezultînd din transformarea provitaminelor ingerate.

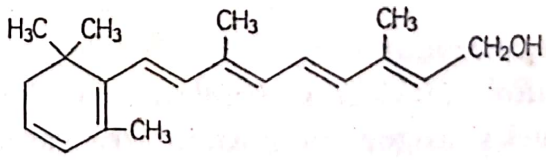
Carotinele, precursori ai retinolilor, aparțin clasei carotinoidelor. Acestea sînt pigmenți nesaturați polienici cu catene constituite din 20—50 atomi de carbon, prezentînd o largă răspîndire în toate plantele (unde se găsesc în asociere cu clorofila), în alge și microorganisme. Carotinoidele ingerate se absorb prin peretele intestinal în prezența lipazelor și a sărurilor biliare; absorbția este însoțită de reacții de oxidare, cu formare de carotinali, retinoli și retinali, precum și de reacții de izomerizare cu formarea de structuri trans complete. Carotinoidele absorbite se acumulează în diferite organe, mai ales în ficat și ovare, sub formă de esteri cu acizii grași superiori, precum și în lapte și gălbenuș de ou. Carotinoidele sînt substanțe solubile numai în lipide și solvenți organici; ele se utilizează ca adaosuri în hrana păsărilor, în scopul colorării intense a gălbenușului de ou și în industria alimentară pentru colorarea diferitelor produse.

Retinolii proveniți din scindarea enzimatică a carotinelor în organismul animal sînt distribuiți în diferite țesuturi și produse biologice predominînd în: ficat, inimă, creier, ochi, lipide de rezervă, plasmă sanguină, lapte, gălbenuș de ou, ulei de pește. Conținutul în retinoli din diferite țesuturi și produse biologice variază în funcție de sezon, fiind mai bogat vara decît iarna.

Structură și proprietăți. Retinolii sau vitaminele *A* se prezintă în două forme structurale denumite *retinol (vitamina A_1)* și *dehidroretinol (vitamina A_2)*. Ambele forme sînt alcooli primari nesaturați conținînd un ciclu β-iononă — care le conferă activitatea biologică — și o catenă laterală cu 9 atomi de carbon și 4 duble legături conjugate; dehidroretinolul posedă o dublă legătură suplimentară, în comparație cu retinolul:



Retinol (Vitamina A_1)

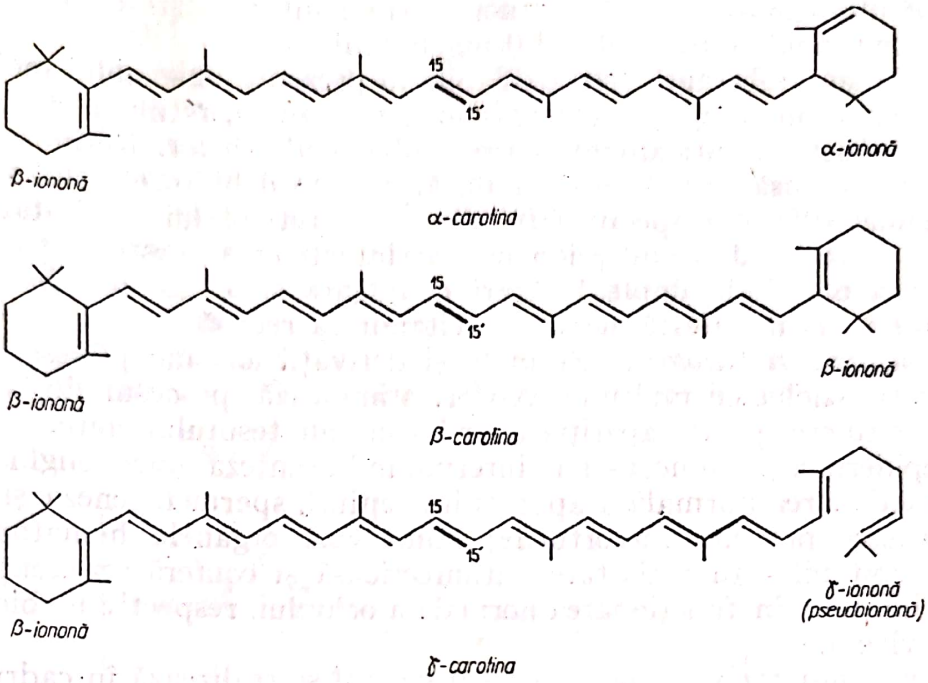


Dehidroretinol (Vitamina A_2)

Principalii precursori ai retinolilor sînt carotinele, care au rol de *provitamine*. Carotinele sînt substanțe liposolubile cu 40 atomi de carbon, constituite dintr-un lanț polienic cu 18C și 9 duble legături conjugate, la un capăt al lanțului fiind grefat un ciclu β-iononă, iar la celălalt un ciclu α-iononă

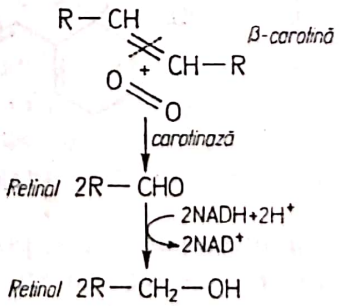
Scanned with OKEN Scanner

sau un ciclu deschis γ-iononă (pseudoiononă). În funcție de natura ciclului iononă, se disting trei tipuri de carotine — α, β, γ — cu următoarele structuri:



În β-carotină, la ambele capete ale lanțului polienic se află cîte un ciclu β-iononă. Moleculele de carotine posedă dublele legături în configurație *trans*, putînd însă izomeriza ușor.

După unii autori, se admite că formarea retinolilor în organismul animal se produce prin scindarea oxidativă a carotinelor în prezența enzimei carotinaza (β-carotină-15,15'-dioxigenaza), reacția petrecîndu-se la nivelul peretelui intestinal, sediul absorbției carotinelor. Atacul enzimatic are loc în prezența oxigenului molecular la dubla legătură mediană din poziția $C_{15} — C_{15'}$ a lanțului polienic (cu formarea unui compus intermediar de tip peroxidic). Inițial, se formează retinal — aldehida corespunzătoare retinolului — care, ulterior, este redusă la retinol în prezența enzimei alcool dehidrogenaza NADH-dependentă:



După un alt mecanism propus, scindarea oxidativă a β-carotinei se realizează succesiv la nivelul dublelor legături, începînd de la o extremitate a moleculei; rezultă astfel o serie de produși intermediari cu scurtarea lanțului polienic pînă la obținerea de retinal care apoi este redus la retinol.

β-*Carotina* este principala provitamină *A*, fiind mai activă în producerea de retinoli decît celelalte carotine. Absorbția retinolilor prin peretele intestinal

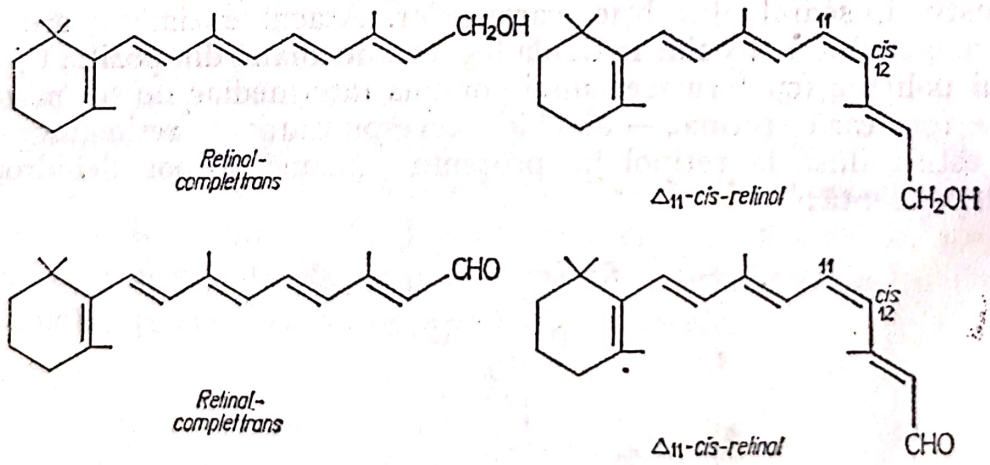
este favorizată de absorbția simultană a lipidelor și de prezența sărurilor biliare. După absorbție, retinolii se depozitează îndeosebi în ficat și în lipidele de rezervă. În plasma sanguină, retinolii și carotinele se găsesc sub formă de lipoproteide, concentrația în retinoli variind între 17 și 100 mg/100 ml, iar cea în carotinoide între 0,10 și 1,0 mg/100 ml.

Retinolii sînt substanțe ușor oxidabile în prezența oxigenului molecular, transformîndu-se în compuși biologic inactivi; de aceea, retinolii trebuie protejați prin substanțe antioxidante care inhibă oxidarea lor. Retinolul manifestă cea mai intensă activitate vitaminică, pe cînd dehidroretinolul și acidul retinoic numai 40% și respectiv 60% din cea a retinolului. Activitatea biologică este conferită de ciclul β-iononă, iar intensitatea acestei activități de existența sistemului de duble legături conjugate și a izomerilor *complet trans*; izomerii *cis* manifestă activitate vitaminică redusă.

Rol biochimic și fiziologic. Retinolii și derivații lor îndeplinesc funcții biochimice și fiziologice multiple. Astfel: stimulează procesul de creștere a animalelor tinere; previn apariția unor leziuni ale țesutului epitelial, cheratinizarea epidermei și a mucoaselor; intervin în biosinteza mucopoliglucidelor; asigură funcționarea normală a aparatului genital, spermetogeneza și reproducția normală, prevenind avorturile; stimulează organele hematopoetice; protejează epiteliile, au activitate antiinfecțioasă și conferă rezistență organismului; intervin în funcționarea normală a ochiului, respectiv în biochimia procesului vizual.

Biochimia procesului vizual. Procesul vederii se realizează în cadrul unui *„ciclu vizual"* la care participă retinolul, aldehida sa corespunzătoare, retinalul, și pigmenți fotosensibili de natură proteică (rodopsină și porfiropsină — în celule din retină tip „bastonașe" — și scotopsină și iodopsină — în celulele din retină tip „conuri").

Retinolul și retinalul intervin în reacțiile ciclului vizual ca stereoizomeri complet trans sau Δ_{11}-cis, cu următoarele structuri:



Pentru ca lumina ce cade asupra retinei să poată genera semnale care să fie transmise sistemului nervos, ea trebuie să fie în prealabil absorbită de către pigmenți fotosensibili localizați în retină. *Rodopsina*, pigment fotosensibil vizual existent în „bastonașele" retinei, reprezintă o proteină conjugată constituită dintr-o componentă proteică — opsina — și o componentă prostetică — stereoizomerul Δ_{11}-cis retinal; structura acestui stereoizomer posedă patru duble legături în configurație trans și o dublă legătură $C_{11} - C_{12}$ în configurație cis.

În momentul cînd o moleculă de rodopsină absoarbe o cuantă de lumină, componenta 11 cis-retinal suferă o modificare stereoizomeră transfor-

Scanned with OKEN Scanner

mîndu-se în forma retinal-complet trans; această izomerizare este implicată în generarea semnalului nervos, respectiv a excitației vizuale. Ulterior, complexul proteic disociază cu eliberarea opsinei și a retinalului complet trans; acesta poate fi apoi redus de către alcool dehidrogenază (ADH) în prezența NADH cu formare de retinol complet trans (vitamina A_1).

Lumina exercită și un al doilea rol în ciclul vizual, respectiv în ciclul rodopsinei, în sensul că mediază asocierea 11 cis-retinalului cu opsina pentru a regenera rodopsina. Totodată, 11 cis-retinalul poate fi regenerat fie prin izomerizarea retinalului-complet trans, fie prin oxidarea 11 cis-retinolului în prezența NAD^+ și a ADH. La rîndul său, 11 cis-retinolul se poate forma prin izomerizarea enzimatică a retinolului complet trans.

În esență, chimismul procesului vizual se bazează pe scindarea rodopsinei la opsină și eliberarea stereoizomerului retinal-complet trans, mecanismul acestui proces fiind realizat printr-o succesiune de reacții enzimatice.

Reacțiile biochimice ale actului vizual sînt redate în figura 6.2.

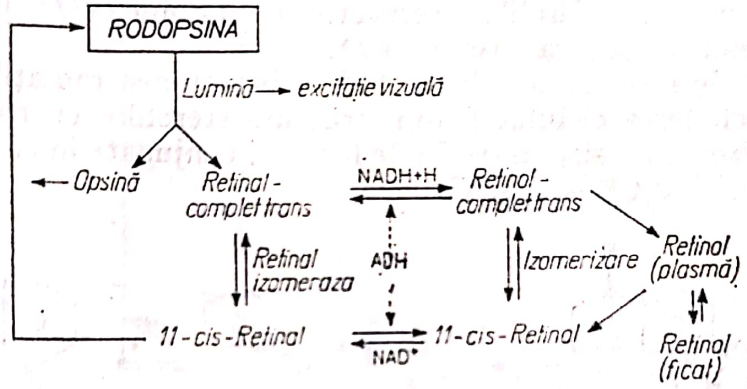


Fig. 6.2. Reacțiile biochimice ale procesului vizual.

În deficit de vitamina *A*, sinteza rodopsinei este afectată, adaptarea ochiului la întuneric devenind incompletă, iar în cazuri cronice se produce degenerarea retinei.

Carența în retinoli poate fi consecința unei alimentații sărace în provitamine, a unor defecte de absorbție a vitaminelor și respectiv a provitaminelor sau a imposibilității conversiei provitaminelor în vitaminele corespunzătoare.

Efectele carențiale sînt complexe, și anume: încetarea creșterii, pierderea în greutate a organismului, leziuni și keratinizarea epiteliilor, hiperkeratoză foliculară (uscarea și asprimea pielii), xeroftalmie (modificări degenerative ale ochiului, uscarea conjunctivei, sclerozarea corneei, orbire), keratomalacie (tumefierea, scleroza și distrucția corneei), hemeralopie (incapacitatea ochiului de a se adapta și percepe la întuneric), tulburări ale aparatului genital (degenerare a epiteliului testicular, avorturi, fecunditate redusă, ciclu estral prelungit și fără ovulație), leziuni ale oaselor și epiteliilor gingivale, tulburări gastrointestinale etc.

Carența în vitamine *A* poate fi determinată fie prin oxidarea carotinelor în furajele conservate în condiții improprii, fie prin hrănire cu concentrate cu conținut redus în carotine. La bovine, carența produce infertilitate ca urmare a unor tulburări de spermatogeneză, afecțiuni ale căilor genitale la vaci, dereglări ale proceselor sexuale de la gametogeneză la parturiție, tulburări de ciclicitate, retenții placentare, avorturi, nașteri de produși debili și neviabili. La suine, se produc pierderi însemnate încă din faza intrauterină sau după naștere, produșii fiind neviabili. La păsări, carența induce diminuarea producției de ouă și a procentului de ouă eclozionate, predispoziție pentru infecții și slăbire progresivă.

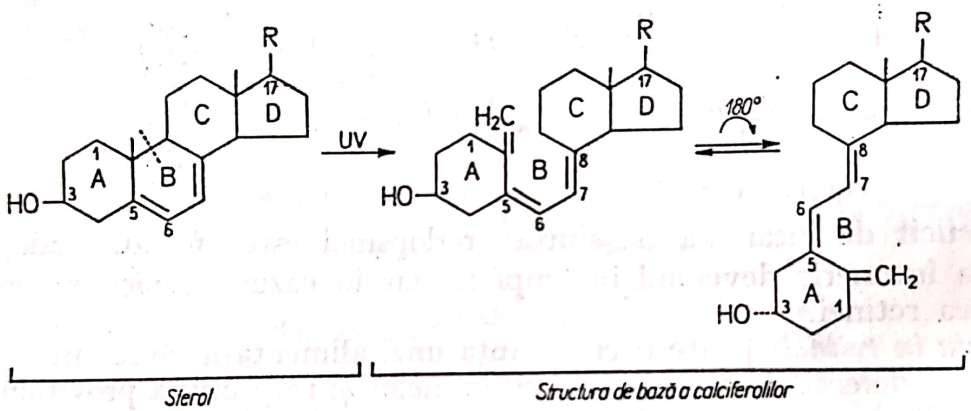
Scanned with OKEN Scanner

Distribuție. Se găsesc răspîndiți în cantități relativ mici sub formă de *provitamine* derivînd de la micosteroli, fitosteroli și zoosteroli.

Pe lîngă aportul exogen relativ scăzut în calciferoli, omul și animalele beneficiază de căi naturale de obținere a acestora, și anume prin acțiunea radiațiilor ultraviolete ale luminii solare asupra provitaminelor de natură sterolică din piele, provitamine care astfel sînt convertite în calciferoli. Surse bogate în calciferoli, respectiv în provitaminele acestora sînt: pielea, ficatul, gălbenușul de ou, laptele de vacă (mai ales în perioada de vară) și, în special, uleiul de pește și drojdia de bere. După absorbție, calciferolii, în stare liberă sau sub formă de esteri cu acizi grași, se pot depozita în diferite țesuturi și organe.

Structură. Calciferolii reprezintă un grup de compuși termostabili cu constituție chimică analogă care derivă de la diferiți steroli cu funcție de provitamine; denumirea calciferolilor, respectiv a vitaminelor *D*, provine de la sterolul care funcționează ca provitamină.

Mecanismul de formare a calciferolilor sub acțiunea radiațiilor ultraviolete implică deschiderea ciclului *B* din structura sterolilor cu rol de provitamine și constituirea unui sistem de duble legături conjugate în ciclul *B* deschis și anume, în pozițiile $C_5 - C_6$ și $C_7 - C_8$:



Sterol — Structura de bază a calciferolilor

Structura chimică de bază a calciferolilor este rezultatul unui proces fotochimic ireversibil generat de radiațiile ultraviolete la nivelul pielii, proces în care se formează și compuși chimici intermediari; pentru structura calciferolilor se prevede și o formă configurațională în care ciclul A suferă o rotire cu 180°.

Calciferolii posedă aceeași structură de bază însă diferă prin natura chimică a radicalilor R, în funcție de provitamina de la care derivă. Originea, structura și denumirea calciferolilor sînt prezentate schematic în tabelul 6 — 7.

Activitatea vitaminică potențială a calciferolilor este conferită de structura de bază, iar intensitatea activității de natura radicalului R grefat la C_{17}.

Rol biochimic. Pentru organismul animal, cei mai importanți calciferoli sînt: *ergocalciferolul* (vitamina D_2) și mai ales *colecalciferolul* (vitamina D_3), acesta rezultînd prin iradierea provitaminei 7-dehidrocolesterol. La mamifere și păsări colecalciferolul se formează în piele, blană și pene; la om se formează în piele, unde melanina limitează pătrunderea excesivă a luminii ultraviolete.

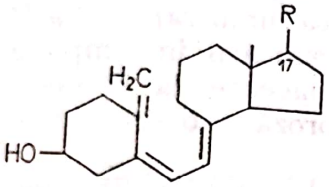
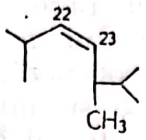
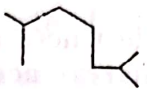
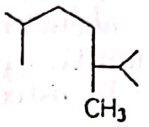
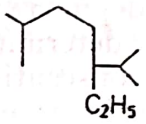
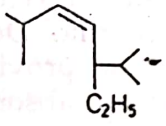
Date recente au demonstrat că forma activă a colecalciferolului este, de fapt, 1,25-*Di*H*i*droxi*C*ole*C*alciferolul (1,25 DHCC).

Formarea 1,25 DHCC implică două etape: inițial, colecalciferolul este hidroxilat în microzomii celulelor hepatice la poziția C_{25} cu formarea de 25-hi-

Scanned with OKEN Scanner

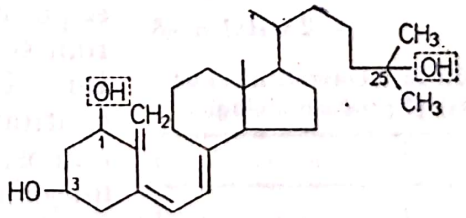
Tabelul 6—7

Structura şi denumirea calciferolilor

Structura de bază	Structura radicalului R	Provitamine	Denumire	Vitamina D
		Ergosterol	Ergocalciferol	D_2
		7-Dehidro-colesterol	Colecalciferol	D_3
		22-Dihidro-ergosterol	Dihidro-ergocalciferol	D_4
		7-Dehidro-sitosterol	Dehidrosito-calciferol	D_5
		7-Dehidro-stigmasterol	Dehidrostigma-calciferol	D_6

droxicolecalciferol; ulterior, acesta este hidroxilat în mitocondriile celulelor renale la poziția C_1 cu formare de 1,25-dihidroxicolecalciferol, compus cu activitate biologică ce este transportat la organe țintă unde își exercită efectele. Producerea 1,25 DHCC este dependentă de concentrația calciului din sînge.

Piele (7-Dehidrocolesterol) ↘
Alimentație ↗ *Colecalciferol* (plasmă sanguină)
O_2 ↓ Ficat (microzomi)
25-Hidroxicolecalciferol
O_2 ↓ Rinichi (mitocondrii)



1,25-Dihidroxicolecalciferol

1,25 DHCC se comportă ca un hormon. Activitatea sa se manifestă la nivelul intestinului unde controlează absorbția calciului, la nivelul nucleilor celulari unde influențează transcripția ARN mesager; participă, totodată, la formarea sistemelor de transport a calciului, inclusiv a celor controlate de către parathormon. Efectele deficitului în vitamina D_3 respectiv, apariția rahitismului, par a fi datorate limitării producerii de 1,25 DHCC.

Scanned with OKEN Scanner

1,25 DHCC și calciferolii în general exercită următoarele funcții: previn și vindecă rahitismul; măresc permeabilitatea celulelor mucoasei intestinale pentru ionii Ca^{2+} și acționează ca factori de reglare a calciului în organism; induc formarea și controlează producerea unei proteine specifice care leagă calciul în mucoasa intestinală (această proteină — cu masă moleculară de 24000 — leagă și transportă calciul în raportul de un atom de calciu la o moleculă de proteină); asigură menținerea în raporturi constante a ionilor Ca^{2+} și PO_4^{3-} prin stimularea absorbției calciului în intestin și a resorbției renale a fosfaților; intervin în procesul de osteogeneză, determinînd osificarea normală; stimulează glicogenogeneza hepatică și musculară; influențează metabolismul acidului citric care concură la efectul antirahitic; favorizează secreția hormonilor hipofizari.

Carența în calciferoli produce la animalele tinere rahitismul caracterizat prin: calcifiere incompletă a oaselor și deformarea acestora, absorbție insuficientă a Ca^{2+} (10—20 %), mobilizarea fosfaților și crearea unui raport Ca/P inadecvat osificării normale, întîrzierea sau încetarea osificării în timp ce cartilagiile continuă să crească producîndu-se umflături adiacente la încheieturi; la animalele adulte se produce osteomalacie, osteoporoză — oasele devenind spongioase.

În rahitism și osteomalacie se produce o depunere insuficientă a sărurilor de calciu în matricea osului. Hipovitaminoza *D* determină o creștere a activității fosfatazelor alcaline din ser cu eliberarea consecutivă de fosfor din diferiți compuși organici, tetanie datorită scăderii accentuate a calcemiei și iritabilitate nervoasă; la păsări se constată o diminuare a ecloziunii respectiv a producției de ouă a căror coaje devine subțire și fragilă. Dereglările determinate de hipovitaminoza D se datoresc deficitului de provitamine sau calciferoli din hrană, lipsei de expunere la lumina solară sau absorbției intestinale defectuoase a calciului.

Carența în vitamine *D* afectează fertilitatea, determinînd dereglări în ciclicitatea sexuală, diestru prelungit, retenții placentare și perturbarea dinamicii parturiției. În alimentația animalelor de fermă se administrează periodic vitamine D sub formă de uleiuri vegetale sau drojdie de bere iradiată care are un conținut bogat în ergocalciferol (vitamina D_2).

6.2.2.3. TOCOFEROLI (vitamine E)

Distribuție. Sînt de origine exclusiv vegetală, fiind răspîndiți în majoritatea plantelor, în frunze verzi, în uleiuri vegetale ca cel din germeni de grîu și porumb. În organismul animal, tocoferolii se găsesc distribuiți în diferite țesuturi și organe (tab. 6—8), predominînd cantitativ în glandele suprarenale, țesutul adipos, testicule, ficat, mitocondriile mușchiului cardiac; se găsesc și în placentă de unde trec la fetus; de asemenea, laptele și ouăle conțin tocoferoli, cantitatea acestora fiind mai mare în perioadele în care hrana este mai bogată în nutrețuri verzi.

Tabelul 6—8

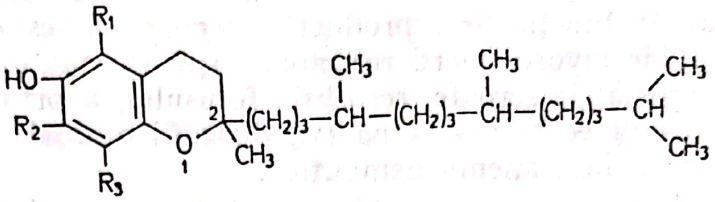
Conținutul mediu în tocoferoli al unor organe (țesuturi) și produse biologice

Proveniență	mg/100 g
Suprarenale	18,8
Țesut adipos	2,3
Testicule	1,6
Pancreas	1,0
Ficat	0,7
Lapte	0,9

Structură. Tocoferolii sau *vitaminele E* reprezintă denumirea generică a unui grup de compuși chimici derivați de la heterociclul croman (benzo-

Scanned with OKEN Scanner

piran) pe care sînt grefați radicalul — OH, unul pînă la patru radicali — CH_3 în diferite poziții și un radical cu 16 atomi de carbon. Se cunosc mai multe tipuri de tocoferoli, însă cel mai important ca activitate biologică este *α-tocoferolul*:



α — tocoferol: $R_1, R_2, R_3 = -CH_3$

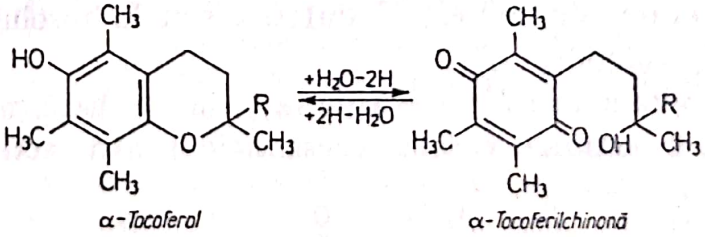
β — tocoferol: $R_1, R_3 = -CH_3$; $R_2 = H$

γ — tocoferol: $R_2, R_3 = CH_3$; $R_1 = H$

δ — tocoferol: $R_3 = -CH_3$; $R_1, R_2 = H$

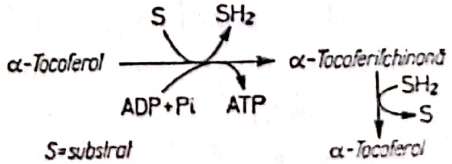
Sînt substanțe uleioase de culoare galbenă, instabile în prezența agenților oxidanți, solubile în lipide și solvenți ai acestora. Absorbția lor se realizează la nivelul intestinului subțire și este facilitată de prezența acizilor biliari; manifestă activitate optică datorită atomului de carbon asimetric (C_2), izomerul natural fiind cel dextrogir.

Rol biochimic. Tocoferolii manifestă un spectru larg de acțiune. Astfel: intervin în funcția de reproducție la unele animale, asigurînd funcționarea normală a organelor genitale și prevenind sterilitatea, acțiune care le conferă și denumirea de vitamine ale fertilității; manifestă activitate antioxidantă, protejînd contra oxidării acizii grași nesaturați, retinolii și carotinele; protejează sistemele mitocondriale de inhibiția ireversibilă a peroxizilor lipidici; favorizează absorbția și convertirea carotinelor în retinoli; proprietatea antioxidantă și de participare ca transportori de hidrogen în procesele de oxidoreducere se bazează pe următoarea reacție reversibilă care se petrece cu deschiderea ciclului piranic și trecere de la forma croman (α-tocoferol) la forma chinonă (α-tocoferilchinonă):



α-Tocoferol — α-Tocoferilchinonă

Prin sistemul reversibil tocoferol — tocoferilchinonă, tocoferolii participă în procesele de oxidare celulară și respectiv de fosforilare oxidativă în care se biosintetizează ATP:



De asemenea, tocoferolii protejează anumite enzime care participă în procesul de respirație celulară, intervin în controlul asupra vitezei de biosinteză a ADN, favorizează sinteza cromatinei, participă în reglarea consumului de oxigen în țesutul muscular, cresc rezistența organismului față de infecții.

Carența în tocoferoli determină simptome caracteristice care depind de specie: tulburări în funcția de reproducție, degenerări testiculare și ale uterului la animale ierbivore, pierderea mobilității spermatozoizilor, scăderea fecundității în special la scroafe, resorbția fetusului, avorturi, tulburări vasculare și diminuarea ecloziunii la păsări, distrofii musculare acute la viței, purcei, miei, pui și chiar anemii hemolitice.

În deficit de tocoferoli, peroxidarea acizilor grași determină formarea în diferite țesuturi a unui pigment galben („ceroid").

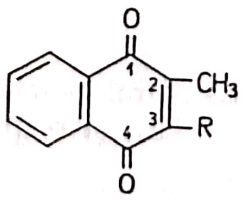
Efectele carențiale pot fi diminuate și combătute prin administrare de α-tocoferol în asociere cu seleniu; administrarea tocoferolilor în scopuri terapeutice are efecte asupra scăderii avorturilor la vaci. Necesități sporite apar în condițiile în care hrana conține cantități mai mari de acizi grași polinesaturați și în defecte de absorbție.

6.2.2.4. VITAMINE K (menaftone)

Distribuție. Sînt sintetizate, în special vitamina K_1, de către părțile verzi ale plantelor; vitaminele K_2 sînt sintetizate de către microorganismele care constituie flora localizată în rumenul rumegătoarelor sau în intestinul gros al nerumegătoarelor. Flora microbiană constituie o sursă importantă de vitamine *K* pentru organismul animal, care astfel devine puțin expus carenței vitaminice. Absorbția vitaminelor se realizează în prezența sărurilor biliare; după absorbție, se depozitează în cantități mici în țesutul hepatic. Gălbenușul de ou și laptele, îndeosebi în perioada de vară, au un conținut mai ridicat în vitamine *K*.

O serie de compuși cu activitate vitaminică (menaftone) au fost obținuți prin sinteză, dintre care unii posedă o activitate biologică superioară vitaminelor *K* naturale. Vitaminele *K* sintetice sînt hidrosolubile, pe cînd cele naturale sînt liposolubile.

Structură. Vitaminele *K* derivă de la ciclul de bază metilnaftochinonă. Caracteristicile structurale care sînt esențiale pentru activitatea biologică



sînt: prezența radicalului metil în poziția C_2, ciclul benzenic nesubstituit și prezența unui substituent alifatic (R) în poziția C_3.

Substanțele cu activitate biologică în a căror constituție intră 2-metil-1, 4-naftochinona poartă denumirea generică de *menaftone*.

Scanned with OKEN Scanner

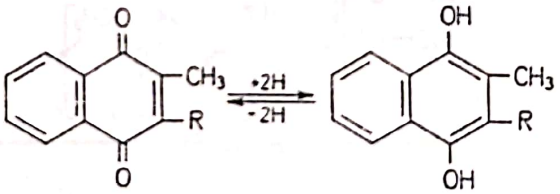
Vitaminele *K* naturale sînt filochinona (vitamina K_1) și farnochinonele (vitamine K_2) ale căror structuri diferă prin radicalul R grefat la ciclul de bază — metilnaftochinona:

În filochinonă, $R = -CH_2 - CH = \underset{\displaystyle CH_3}{\overset{|}{C}} - (CH_2 - CH_2 - CH_2 - \underset{\displaystyle CH_3}{\overset{|}{CH}})_3 - CH_3$

În farnochinone, $R = -(CH_2 - CH = \underset{\displaystyle CH_3}{\overset{|}{C}} - CH_2)_n - H$ $\qquad n = 6 - 9$

Dintre vitaminele *K* sintetice, o activitate biologică remarcabilă prezintă *menadiona* sau vitamina K_3 în care R = H.

Rol biochimic. Vitaminele *K* prezintă o importanță fundamentală în procesul de coagulare a sîngelui, funcție care le conferă denumirea de vitamine de coagulare sau antihemoragice; ele participă la biosinteza protrombinei care intervine în coagularea sîngelui, nivelul scăzut al protrombinei (asociat cu diminuarea factorilor VII, IX și X din sînge) determinînd creșterea timpului de coagulare a sîngelui (de la 12 — 15 s la peste 30 s) și fenomene hemoragice (în aceste condiții, protrombina este insuficientă pentru a fi convertită într-o cantitate corespunzătoare de trombină, enzimă proteolitică implicată în etapa finală a procesului de coagulare a sîngelui). Intervin, de asemenea, în reacții de oxidoreducere și participă în procesele de respirație celulară funcționînd ca transportori de hidrogen cu localizare între dehidrogenazele NADH — dependente și citocromi:



Forma chinonă *Forma hidrochinonă*

Li se atribuie un rol în biosinteza proteinelor, probabil ca efectori alosterici, precum și în biosinteza ARN mesager necesar sintezei protrombinei.

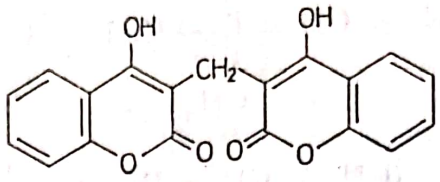
Carența în vitamine *K* determină perturbarea procesului de coagulare a sîngelui, hemoragii, hipoprotrombinemie; deficitul în protrombină și în factorii VII, IX, X produce sîngerări la animalele nou-născute datorită reducerii permeabilității placentei pentru vitaminele *K*.

Deși aportul exogen și flora microbiană din rumen sau intestinul gros furnizează cantități suficiente de vitamine *K*, se poate produce totuși — în unele cazuri — un deficit în vitamine *K* datorită unor factori ca: malabsorbție din lipsa în cantitate suficientă a sărurilor biliare (infecții hepatice sau ale vezicii biliare), tulburări gastrointestinale însoțite de defecte de absorbție a lipidelor, modificarea sau distrugerea florei microbiene din prestomace sau din intestinul gros în urma administrării masive de antibiotice.

Deoarece biosinteza protrombinei este localizată în ficat, afecțiuni ale țesutului hepatic generează stări hemoragice mai ales cînd absorbția vitaminelor *K* este diminuată din cauza insuficienței sărurilor biliare. În boli hepatice, intoxicații sau după intervenții chirurgicale se administrează vitamine *K* în scopul stimulării biosintezei protrombinei necesară coagulării normale a sîngelui.

Scanned with OKEN Scanner

Vitele cornute hrănite cu nutreţuri alterate (îndeosebi trifoi) prezintă fenomene hemoragice datorită prezenţei în aceste nutreţuri a *dicumarolului*, substanţă care acţionează ca *antivitamină K*, blocînd sinteza protrombinei



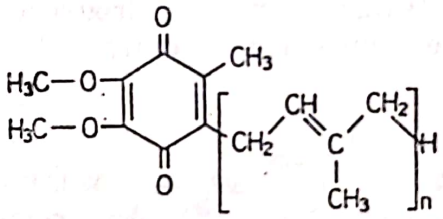
Dicumarol

în ficat. Dicumarolul şi alţi derivaţi sintetici de la cumarină sînt utilizaţi ca anticoagulanţi în clinică pentru a preveni coagularea sîngelui în tromboza venelor sau în obstrucţii coronariene.

6.2.2.5. UBICHINONE (UQ_n)

Distribuţie. Sînt substanţe liposolubile cu o largă distribuţie în toate ţesuturile organismului animal, sediul lor de localizare fiind mitocondriile; ţesutul adipos conţine, de asemenea, ubichinone. Ubichinonele nu sînt considerate vitamine propriu-zise, deoarece organismul animal le poate sintetiza din fenilalanină şi tirozină.

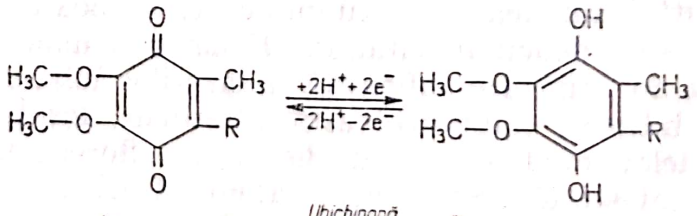
Structură. Ubichinonele sînt derivaţi de la benzochinonă care conţin o catenă izoprenoidă:



Ubichinona (UQ_n)

În mitocondriile organismelor superioare predomină ubichinona în care numărul radicalilor izoprenoid din catena laterală este egal cu 10 (UQ_{10}); la organismele inferioare $n = 6 - 9$.

Rol biochimic. UQ_{10} deţine o funcţie biochimică importantă prin participarea sa în procesele de oxidoreducere, respectiv ca transportor de electroni în catena de respiraţie (oxidare) celulară, constituind un component necesar al sistemului mitocondrial de transport de electroni. Această proprietate se bazează pe formarea următorului sistem redox:



(Forma oxidată) *Ubichinonă* *(Forma redusă)*

În sistemul transportor de electroni din mitocondrii, UQ_{10} intervine cuplată cu o proteină şi funcţionează ca o coenzimă ($CoUQ_{10}$).

Ubichinonelor li se atribuie un anumit rol şi în secreţia hormonilor corticosuprarenali, precum şi în metabolismul colesterolului.

6.3. TESTE DE VERIFICARE

1. Coenzimele sînt:
   — efectori enzimatici?
   — inhibitori competitivi?
   — activatori enzimatici?
   — efectori alloster ci?

Să se indice și să se argumenteze soluția (soluțiile) corespunzătoare.

2. Să se menționeze vitaminele și denumirea coenzimelor respective care participă la transferul enzimatic de hidrogen, cu precizarea grupărilor chimice implicate în reacția de transfer.

3. Vitaminele riboflavina și nicotinamida intră în structura unor coenzime ale dehidrogenazelor. Să se completeze și să se indice prin formule de structură următoarele reacții de oxidoreducere:

$$\text{Substrat-}H_2 + FAD \rightleftharpoons$$

$$\text{Substrat-}H_2 + NAD^+ \rightleftharpoons$$

4. Să se precizeze care din vitaminele menționate în următorul tabel au rol de coenzime, participînd la reacțiile indicate în același tabel:

Vitamine	Transfer grupare		Decarboxilare aminoacizi	Transformarea metilmalonil-Coenzimei A în succinil-Coenzima A
	amină	formil		
Piridoxal fosfat				
Calciferoli				
Tiamina				
Vitamina B_{12}				
PAB				
Acid tetrahidrofolic				
Biotina				

5. Să se precizeze dependența chimismului procesului vizual de modificările structurale stereochimice ale retinalului și să se comenteze semnificația acestor modificări.

6. Unele vitamine hidrosolubile și liposolubile participă la reacții de oxidoreducere. În acest sens, să se completeze următorul tabel:

Denumirea vitaminelor	Reacții de oxidoreducere (cu formule)

7. Ca vitamină, acidul pantotenic participă în structura unei coenzime implicată în transferul radicalului acil. Să se indice denumirea acestei coenzime, structura sa chimică și reacția de transfer a radicalului acetil.

8. Să se indice care din următoarele vitamine manifestă acțiune lipotropă și în ce constă această acțiune:
   — Piridoxina?
   — Colina?
   — Acidul ascorbic?
   — Mezoinozitolul?
   — Retinolii?
   — Acidul pangamic?

Scanned with OKEN Scanner

7

HORMONI

7.1. CONSIDERAȚII GENERALE

Termenul de *hormon* (de la gr. *hormao* = a excita, a stimula) este atribuit substanțelor produse de organism, care manifestă acțiune de stimulare sau excitare asupra diferitelor organe, țesuturi sau procese biochimice. Acțiunea hormonilor constă atît în stimularea cît și în inhibarea diferitelor procese din organism. Hormonii sînt substanțe chimice specifice, secretate de țesuturi glandulare specializate, numite glande cu secreție internă sau endocrine, care sînt deversate în sînge și vehiculate de acesta către diferite țesuturi și organe asupra cărora își exercită acțiunea lor specifică, numite organe sau țesuturi țintă. Ramura de știință care se ocupă cu studiul glandelor endocrine poartă denumirea de *endocrinologie*.

Hormonii reglează și coordonează funcționarea diferitelor organe, influențînd creșterea și diferențierea organelor și țesuturilor și participă la procesele metabolice ce au loc în organism. Existența organismului ca o unitate este asigurată, pe de o parte de sistemul nervos, constituind reglarea nervoasă, iar pe de altă parte de sistemul glandelor endocrine, constituind reglarea hormonală. De această funcționare este legată capacitatea organismului de adaptare la procesele biochimice și fiziologice.

Hormonii constituie punctele de joncțiune sau nodale de comunicare între celule, fără de care creșterea armonioasă și diferențierea celulelor ar fi imposibilă. Una dintre metodele de comunicare este trecerea de substanțe chimice prin punctele nodale speciale. Cele mai dezvoltate puncte de joncțiune, de comunicare sînt *sinapsele*, un contact specializat între neuroni. Un impuls nervos transmis prin membrana unui neuron se realizează cu eliberarea unei substanțe chimice *transmițătoare*, care trece liber dintre celulele sinapselor și inițiază un impuls nervos în al doilea neuron. În acest fel are loc transmiterea informației din mediu în celulă. Secreția de hormoni în sistemul circulator este un tip major de comunicare între celulele animale. Cel mai bine este stabilit pentru celulele nervoase, astfel că *neurochimia* a devenit una dintre ramurile majore ale biochimiei.

Scanned with OKEN Scanner

7.2. GLANDE ENDOCRINE

Glandele cu secreție internă elimină hormonii secretați în mediul intern al organismului, sînge și limfă, spre deosebire de glandele exocrine care elimină produșii secretați în mediul extern al organismului. Sistemul endocrin al vertebratelor este alcătuit din următoarele glande: hipofiză, epifiză, pancreas, paratiroidă, suprarenală, tiroidă, timus și gonade sau glande sexuale. Gonadele se diferențiază după sex și anume: testicule pentru masculi, iar ovarele și placenta (cu funcție hormonală numai în mod temporar) pentru femele. Numărul real al componentelor sistemului endocrin este mai cuprinzător, întrucît unele glande sînt alcătuite din mai multe componente distincte ca structură și produc hormoni diferiți ca structură și acțiune. Așa de exemplu, hipofiza are trei regiuni distincte și produce aproximativ 10 hormoni diferiți, iar pancreasul produce atît hormoni, cît și enzime.

7.3. REGLAREA SECREȚIEI HORMONALE

Sinteza și depleția hormonilor sînt supuse unui control riguros umoral și nervos, iar schimbările mediului intern aduc un răspuns prompt. Formarea hormonilor activi în organism are loc în mod continuu. În cazul unui necesar mărit de hormoni, glandele endocrine sînt influențate pe calea nervoasă și umorală sau prin intermediul receptorilor proprii ai *celulelor glandulare* în vederea unei producții mai mari sau mai mici de hormoni. Astfel, o scădere a glucozei din sînge (hipoglicemie) duce la o diminuare în producerea și eliberarea insulinei ca urmare a dispozitivelor pentru înregistrarea conținutului de glucoză plasmatică de la nivelul celulelor secretorii. În alte cazuri sînt cuplate dispozitivele reglatoare sub formă umorală sau nervoasă. Centre reglatoare pentru funcția glandelor endocrine care influențează în special metabolismul (reproducția, gospodărirea apei și a clorurii de sodiu) se regăsesc în hipotalamus. Aceste centre stau în dependență strînsă funcțională cu hipofiza, cu sistemul nervos vegetativ și cu organul sau cu țesutul țintă asupra căruia acționează (fig. 7.1). Prin hipotalamus funcția acestor centri poate fi influențată de receptorii periferici (fig. 7.2), care pot inhiba sau stimula sistemul hipotalamo-hipofizar. Astfel între diferitele glande endocrine în condiții fiziologice există un echilibru. Dacă are loc o supraproducție a unui anumit hormon, poate fi compensată prin: formarea unor antihormoni, stimularea metabolizării lui, sau prin diminuarea receptivității organului profitor. Existența mai multor măsuri de siguranță face din reglarea umorală un sistem ce funcționează deosebit de bine corelat.

7.4. HORMONI HIPOFIZOTROPI SAU FACTORI DE ELIBERARE HIPOTALAMICI.

Hormonii hipofizotropi, numiți și hormoni de eliberare hipotalamici sau factori de eliberare hipotalamici sînt de origine hipotalamică și îndeplinesc rolul de stimulare sau de inhibare a hormonilor propriu-ziși, în general, îndeosebi a celor tiroidieni ioduraţi. Ei acționează direct la nivelul ade-

Scanned with OKEN Scanner

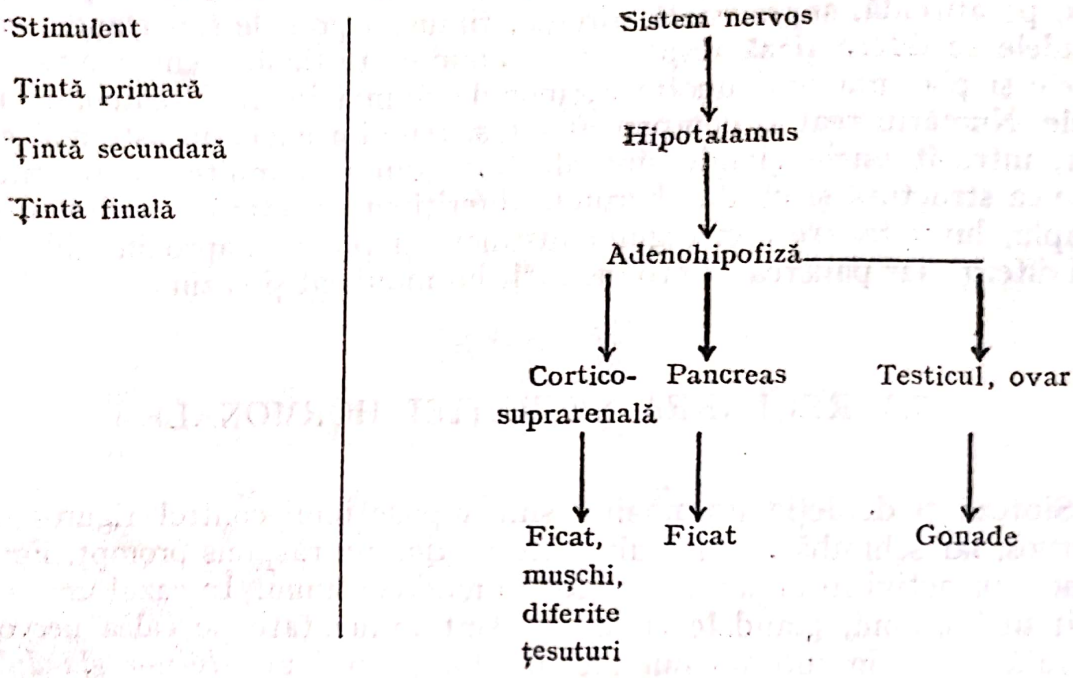


Fig. 7.1. Relația între sistemul nervos, hormon și organul țintă.

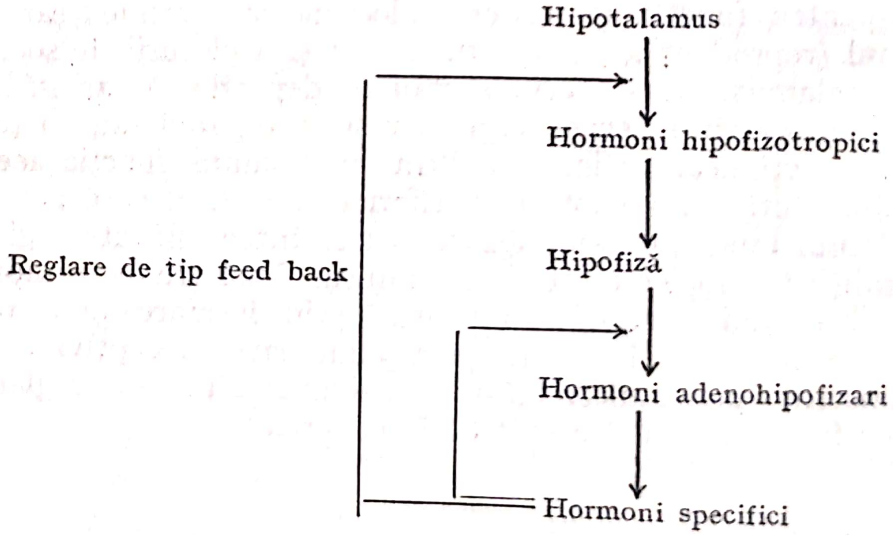


Fig. 7.2. Retrorelația dintre hormonii periferici și secreția hipotalamică.

nohipofizei prin reglarea secreției hormonilor adenohipofizari. A fost confirmată prezența mai multor hormoni hipofizotropi, cîțiva au fost obținuți în formă purificată, iar unii, cum este cel de stimulare a eliberării hormonilor tiroidieni iodurați (TRF, fig. 7.3) a fost caracterizat pe deplin din punct de vedere

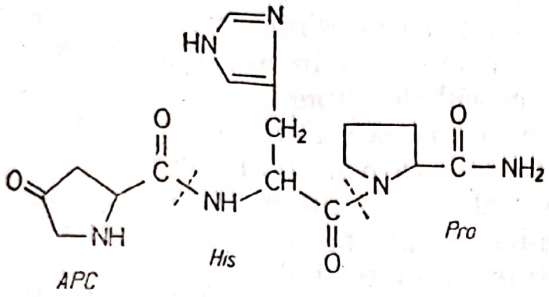


Fig. 7.3. Structura TRF din hipotalamus ovin: *APC* — acid pirolidincarboxilic; ***His*** — histidină; *Pro-* — prolinamidă.

chimic și a fost deja obținut pe cale de sinteză. Pentru fiecare hormon hipofizar există în organism un factor de eliberare hipotalamic și anume:

Hormon hipofizotrop	Hormon eliberat
Corticoliberin	Hormonul corticotropină
Foliberin	—„— folitrop
Gonadoliberin	—„— gonadotropi
Lubiberin	—„— lutrop
Melanoliberin	—„— melanotrop
Melanostatin	—„— melanotrop
Prolactoliberin	—„— prolactină
Prolactostatin	—„— prolactină
Somatoliberin	—„— somatotropină
Somatostatin	—„— somatotropină
Tireoliberin	—„— tireotropină

Hormonii hipofizotropi hipotalamici, cu excepția celui a hormonului de creștere, nu prezintă specificitate de specie în regnul animal. Astfel, factorul de eliberare a hormonului tireotrop provenit de la ovine sau suine este activ la șobolani, șoareci, iepuri de casă, oi și la om. Dar, fiecare hormon hipofizotrop prezintă o specificitate înaltă în stimularea secreției unui anumit hormon.

În ceea ce privește *natura chimică* a hormonilor hipofizotropi sînt peptide sau derivați peptidici cu mase moleculare relativ mici. Acest fapt este confirmat de structura factorului de eliberare a hormonilor tiroidieni iodurați, care este o tripeptidă, de faptul că zonele hipotalamice secretă vasopresină și ocitocină, precum și de prezența în hipotalamus a unor poliamine (histamină, putresceină etc.), care intră în structura unor astfel de factori hipotalamici sau sînt efectori ai eliberării hormonilor.

Privitor la *originea* specifică a acestor factori de eliberare, tipul de celulă care-i produce (neuroni, celule gliale sau alte celule înzestrate în mod deosebit cu activitate neuroendocrină) este încă puțin cunoscută, cu toate că părerea aproape unanimă a specialiștilor este că pentru organism rolul preferențial al hipotalamusului rezidă în legătura lui vasculară cu adenohipofiza. De asemenea, nu se cunoaște biosinteza lor, dar se afirmă că, de exemplu,

Scanned with OKEN Scanner

factorul de eliberare a hormonilor tiroidieni iodurați se formează printr-un sistem enzimatic neribozomial, cu alternativa că ar putea fi rezultat prin scindarea unui prehormon cu masă moleculară mai mare sau dintr-o proteină precursoare.

În privința *modului de acțiune* a factorilor de eliberare hipotalamici există dovezi, atît prin experiențe *in vivo*, cît și *in vitro*, că la administrarea lor are loc o creștere, după circa 5—10 minute, a concentrației în hormoni. Stimularea lor este strict specifică, în sensul că factorul de eliberare a hormonului tireotrop stimulează secreția de TSH, dar nu a LH sau a ACTH. Din studii efectuate *in vitro* reiese faptul că factorii de eliberare hipotalamici necesită prezența de O_2 a ionilor de Ca^{2+} și de Na^+ în declanșarea eliberării de hormoni, iar activitatea nu este inhibată sau prevenită de antibiotice (actinomicină, puromicină etc.). Există dovezi experimentale că factorii de eliberare hipotalamici acționează prin mijlocirea adenozinmonofosfatului-ciclic (AMP-ciclic). O etapă necesară în mecanismul lor de acțiune este cea energetică. Activitatea acestor factori este dublată de mărirea concentrației ionilor de K^+ extracelular, care poate declanșa, fără discriminare, toți hormonii hipofizari (de obicei la o concentrație de ioni de K^+ egală sau mai mare de 18. meq/litru).

Factorii de eliberare hipotalamici pot fi *inactivați* cu destulă ușurință. Astfel factorul de eliberare a hormonilor tiroidieni iodurați este repede inactivat de către plasma sanguină, ser sau sînge integral. Inhibarea este de natură enzimatică.

7.5. FORME DE VEHICULARE ȘI DE ELIMINARE A HORMONILOR

O caracteristică esențială a hormonilor o constituie faptul că ei își îndeplinesc rolul, în general, la distanță de locurile lor de formare, în așa fel că odată eliberați din țesuturile endocrine sînt transportați în întregul organism. Transportarea lor se realizează prin mediul intern al organismului, format din sînge, limfă și lichidele interstițiale:

$$\text{Glandă endocrină} \rightarrow \text{Hormon} \rightarrow \left.\begin{matrix}\text{Cale nervoasă}\\ \text{Limfă}\\ \text{Sînge}\end{matrix}\right\} \rightarrow \text{Organ sau țesut țintă}$$

Calea principală de vehiculare a hormonilor este calea sanguină, numită hemocrinie. Din cantitatea de hormoni secretați, cea mai mare parte sînt deversați în venele care pleacă de la fiecare organ și ajung în acest fel în arborele circulator. În ceea ce privește concentrația hormonilor circulanți, în general, este foarte mică. Astfel, pe calea sanguină concentrația este de 10^{-7} testosteronă și 10^{-8} tiroxină moli la litru. După vehiculare, hormonii sînt apoi preluați de către celulele diferitelor țesuturi și organe.

O altă parte de hormoni sînt vehiculați prin limfă (limfocrinie), prin lichidul cefalorahidian (hidroencefalocrinie), îndeosebi hormonii neurohipofizari prin fibrele nervoase (neurocrinie) și prin lichidul interstițial (topocrinie), îndeosebi hormonii cu masă moleculară mică și numai la distanțe mici.

Scanned with OKEN Scanner

Vehicularea hormonilor se realizează sub formă de compuşi complecşi îndeosebi legaţi de proteine plasmatice, de tip β — sau γ — globulinic. Legătura chimică dintre hormon şi proteină uneori este o legătură strînsă, alteori o legătură slabă. În cazul unei legături strînse, compusul este inactiv, iar pentru eliberarea hormonului este necesară intervenţia enzimei specifice. Hipohormonia o constituie fie o scădere a proteinelor plasmatice, fie o lipsă a enzimelor implicate în scindarea complexului hormono-proteic. Forma activă a hormonului o constituie deci hormonul liber, o formă specifică, care ia naştere din moleculele complexe circulante numai în momentul trecerii în ţesuturile în care urmează să acţioneze.

În organismul animal, hormonii suferă în permanenţă transformări chimice. Astfel, în urma acţiunii lor asupra organului sau ţesutului ţintă, ei suferă diferite transformări catabolice pînă la molecule care şi-au pierdut complet sau în cea mai mare parte proprietăţile hormonale specifice. Sediul inactivării hormonilor îl constituie diferite ţesuturi în care îşi exercită acţiunile sau anumite organe, care au capacitatea deosebită de a cataboliza hormoni. Un rol însemnat în acest sens îl joacă ficatul. De aceea, în cazul leziunilor hepatice se pot produce hipohormonii sau hiperhormonii.

Pentru eliminare, majoritatea hormonilor sînt catabolizaţi, la nivelul ficatului, sau cuplaţi în forme inactive, iar unii eliminaţi ca atare. Eliminarea lor se realizează îndeosebi prin urină şi doar o mică cantitate prin fecale.

Ficat → Rinichi → Urină

Prin salivă şi sudoare se elimină cantităţi extrem de mici. Întrucît principala cale de eliminare este urina, unii hormoni pot fi extraşi din aceasta. Totodată, determinările biochimice şi biologice din urină au o mare importanţă practică, deoarece se pot stabili criterii diagnostice în bolile endocrine.

7.6. RECEPTORI HORMONALI

Hormonii în acţiunea lor asupra celulelor ţintă, traversează membrana acestor celule, dar numai în funcţie de existenţa unor receptori hormonali. Aceşti receptori sînt proteine specializate, care se află în cantităţi mici în toate celulele asupra cărora hormonii îşi exercită efectul şi posedă o afinitate specifică pentru hormonul respectiv, alcătuind un complex receptor-hormon. Aceşti complecşi sînt mesageri intracelulari ce intervin în reglarea proceselor biochimice din celulele ţintă ale organismului.

Receptorii hormonali sînt localizaţi la suprafaţa celulelor ţintă pentru hormonii hidrosolubili (peptidici şi derivaţi ai aminoacizilor) care pot traversa mai greu membrana celulară, şi în interiorul celulelor, în citosol, pentru hormonii liposolubili (steroidici), care pot traversa mai uşor membrana celulară.

7.7. MECANISME GENERALE DE ACŢIUNE A HORMONILOR

În general, hormonii nu au doar un singur efect, ci mai multe. Ei prezintă un efect principal şi mai multe efecte secundare. Aşa de exemplu, hormonii androgeni şi estrogeni influenţează în acelaşi timp organele genitale şi unele

Scanned with OKEN Scanner

procese metabolice generale. Chiar efectul principal al hormonilor sexuali constă în două efecte, pe de o parte, în dezvoltarea organelor genitale, iar pe de altă parte, în dezvoltarea caracterelor sexuale secundare.

Întrucît hormonii sînt substanțe chimice este de la sine înțeles că ei vor exercita acțiuni chimice, în sensul că ei influențează într-o măsură mai mică sau mai mare diferite procese biochimice din organismele animale. Mai mult, acțiunile fiziologice ale hormonilor sînt doar urmări, de cele mai multe ori destul de tardive ale acțiunii lor chimice. Diversitatea lor structurală face să sugereze faptul că mecanismele lor de acțiune sînt diferite și anume: (1) la nivelul membranei celulare, (2) la nivelul biosintezei proteinelor și (3) la nivelul sistemelor enzimatice intracelulare.

La nivelul membranelor celulare hormonii pot acționa prin două mecanisme și anume: unul prin modificarea permeabilității celulare și altul prin interacțiuni cu sisteme enzimatice legate de membrană.

— Prin modificarea permeabilității membranei celulare se realizează un transport al anumitor molecule sau ioni. Așa de exemplu, aldosterona favorizează fluxul ionilor de sodiu în celulele renale sau hormonii adenohipofizari (ACTH, LH, TSH) facilitează pătrunderea glucozei în țesuturi. Efectele exercitate de hormoni asupra transportului prin biomembrane prezintă o importanță deosebită în activitatea metabolică a celulelor. În cele mai multe cazuri acest mod de acțiune este o latură secundară a acțiunii chimice a hormonilor și de aceea nici nu este inclus, în mod obișnuit, în mecanismul biochimic propriu-zis.

— Tot la nivelul membranelor celulare are loc mecanismul de acțiune a hormonilor prin activarea unor sisteme enzimatice care se află legate de membrană și care mediază apoi procesele biochimice intracelulare. Astfel, hormonii (mesager primar) stimulează activitatea enzimei adenilatciclaza din membrană care este capabilă de a scinda ATP în AMP-ciclic (al doilea mesager). AMP-ciclic facilitează apoi formarea unor hormoni (al treilea mesager) la nivelul celulei țintă (fig. 7.4)

AMP-ciclic, considerat ca al doilea mesager chimic al glandelor endocrine, se află în toate organismele începînd de la bacterii pînă la mamifere. La canine, de exemplu, se găsesc în toate organele, dar nu în eritrocite. De ase-

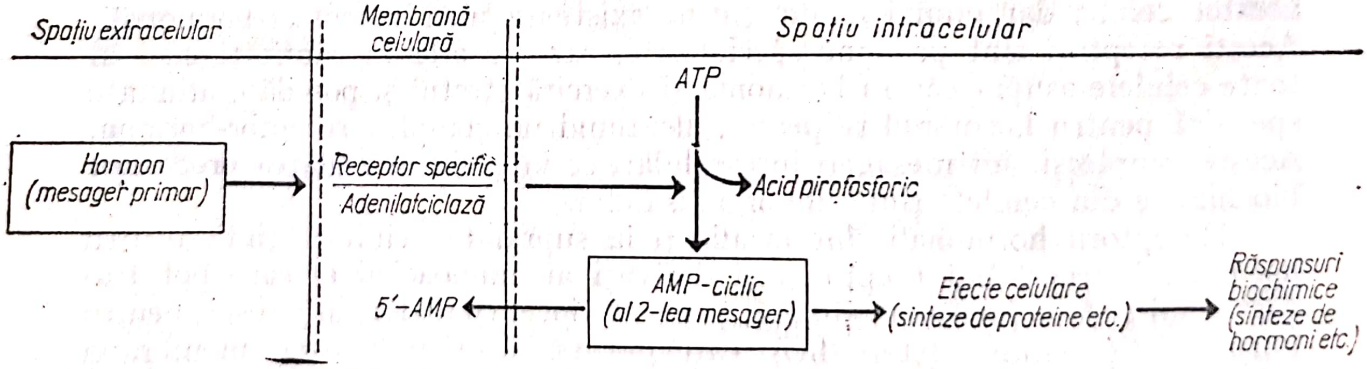


Fig. 7.4. Mecanismul de acțiune a hormonilor prin AMP-ciclic.

menea, adenilatciclaza a fost pusă în evidență la diferite specii animale: bovine, ovine, suine, șobolani, păsări, insecte, bacterii. În tabelul 7.1 sînt redați hormonii care sînt mediați de AMP-ciclic în activitatea lor.

Concentrația intracelulară a AMP-ciclic este reglată de către două enzime și anume, în formare, de către adenilatciclază și în descompunere de către fosfodiesterază. Fosfodiesteraza convertește AMP-ciclic în 5'-AMP prin scindarea hidrolitică a legăturii 3'. Prin activarea sau inhibarea acestor două

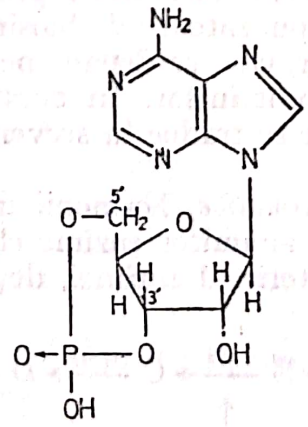
Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 7-1

Hormoni care acţionează prin intermediul AMP-ciclic

Hormonul	Acţiunea hormonală mediată
ACTH	Stimulează formarea hormonilor glucocorticosteroizi în cortexul suprarenal
Hormon lutrop (LH)	Stimulează formarea hormonilor sexuali
Hormon tirotrop (TSH)	Stimulează sinteza tiroxinei
Vasopresina	Stimulează resorbţia apei în canalele renale şi contracţia vaselor sanguine
Ocitocină	Stimulează contracţia musculaturii netede a uterului
Hormoni medulosuprarenali	Stimulează activitatea fosforilazei în ficat şi în muşchi (creşterea glicemiei), a lipazei celulare; intensifică circulaţia sanguină şi acţionează asupra sistemului nervos central
Insulină	Acţionează prin: scăderea glicemiei, stimulează transportul glucozei prin membrana celulară, intensifică utilizarea glucozei şi sinteza gliceridelor
Glucagon	Activează fosforilazele în ficat (măreşte glicemia)
Hormon melanocit-stimulant (MSH)	Reglează distribuţia pigmenţilor în celulele pielii
Paratirin	Mobilizează calciul din schelet şi măreşte eliminarea fosfatului prin fecale
Angiotensină	Măreşte presiunea sanguină şi stimulează secreţia aldosteronei în cortexul suprarenal
Prostaglandine	Stimulează contracţia musculaturii netede (acţiune organospecifică), inhibă lipaza tisulară etc.
Serotonină	Contracţie sau relaxare a musculaturii netede în funcţie de concentraţie. Efecte multiple asupra sistemului nervos

enzime se reglează concentraţia AMP-ciclic. Majoritatea hormonilor activează adenilatciclază, ceea ce duce la formarea AMP-ciclic.



AMP-ciclic

Mecanismul de acţiune al hormonilor prin AMP-ciclic este complex. Cel mai bine este cunoscut în cazul glicogenolizei în ficat şi în muşchi şi cel asupra metabolismului lipidic (lipoliză) în testicule. Astfel, adrenalina stimulează scindarea glicogenului hepatic, ca urmare a medierii procesului de către AMP-ciclic, care favorizează un şir de reacţii alcătuind un sistem în cascadă de scindare a glicogenului (fig. 7.5).

Procesul de fosforoliză a glicogenului decurge în sensul formării glucozo-1-fosfatului, întrucît cea mai mare parte a acestui din urmă compus este utilizat în glicoliză.

Scanned with OKEN Scanner

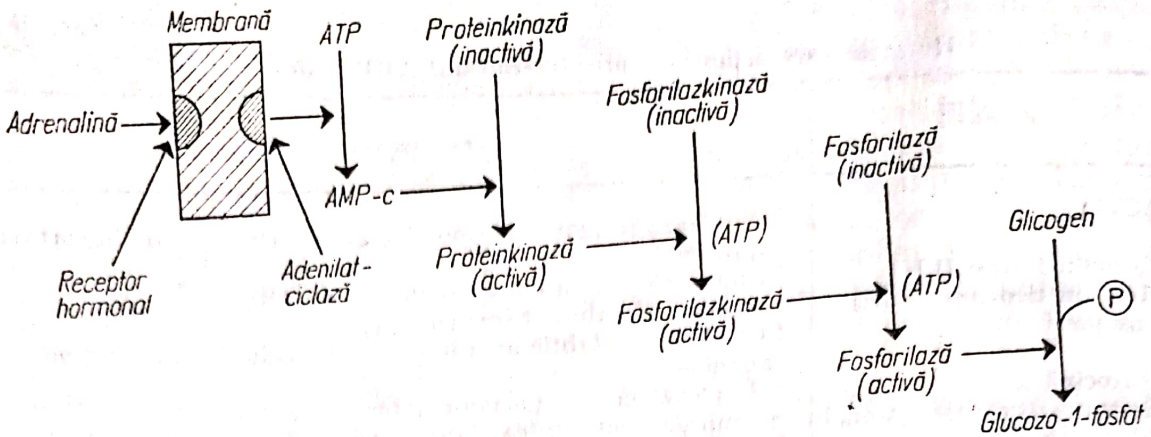


Fig. 7.5. Reglarea hormonală a scindării glicogenului prin medierea AMP-ciclic.

De asemenea, este bine cunoscut efectul de mediere a AMP-ciclic în procesul de lipoliză:

$$\text{Hormon} \rightarrow \rightarrow \text{AMP}_c \rightarrow \begin{cases} \text{Lipază (inactivă)} \\ \downarrow \\ \text{Lipază (activă)} \end{cases} \rightarrow \begin{cases} \text{Trigliceridă} \\ \downarrow \\ \text{Glicerol} + \text{acizi grași} \end{cases}$$

La nivelul biosintezei proteinelor, hormonii intervin prin stimularea aparatului genetic, care este răspunzător de biosinteza proteinelor. Acest efect constituie un control intracelular al biosintezei (vezi Biosinteza proteinelor). La administrarea de hormoni steroidici se constată că are loc biosinteza de proteine specifice. Prin administrarea estronei la cocoș se constată formarea, în ficat, a fosfovitinei, iar la găini la nivelul gălbenușului de ou. Unii dintre hormoni acționează imediat asupra țesuturilor, cum este, de exemplu, adrenalina, iar alții doar după zile sau au o acțiune imediată și alta întîrziată.

Rolul hormonilor la nivelul biosintezei proteinelor constă în activarea anumitor gene, care sînt răspunzătoare de biosinteza ARN. Acest ARN sintetizat este un ARN mesager, care se depune pe ribozomi și servește apoi ca matrice pentru biosinteza proteinelor. În acest mod informațiile genetice din ADN al nucleului celular se traduc în secvența de aminoacizi din proteinele nou-sintetizate.

La nivelul sistemelor enzimatice, hormonii intervin în stimularea proceselor enzimatice, îndeosebi a anumitor enzime cheie din șirul de reacții, prin fixarea lor la un centru alosteric al enzimei, după cum reiese din următorul model:

$$A \xrightarrow{E_1} B \xrightarrow{E_2} C \longrightarrow D \rightarrow \ldots$$

În acest model D este hormonul, iar enzima cheie este E_2.

7.8. CLASIFICAREA HORMONILOR

Pe baza structurii chimice, hormonii se împart în trei grupe: (1) peptide și proteine, (2) derivați ai aminoacizilor aromatici și (3) steroide și prostaglandine, după cum reiese din tabelul 7-2.

Se utilizează și alte criterii de clasificare a hormonilor, dintre care mai importantă este după glanda secretoare.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 7-2

Hormonii vertebratelor

Tipul, dnumirea și sursa hormonului	Locul principal de acțiune
A. *Peptide și proteine*:	
1. Hormoni produși de hipofiză	
a) Adenohipofizari:	
Somatotropină (de creștere, GH sau STH)	Toate țesuturile
Corticotropină (ACTH)	Cortexul suprarenal țesutul adipos
Tirotropină (TSH)	Tiroidă
Folitropină (FSH)	Ovar, testicul
Lutropină (hormon luteinizant, ICSH sau LH)	Ovar, testicul
Prolactină (mamotrop)	Glanda mamară
Lipotropină	
b) Neurohipofizari:	
Vasopresină (hormon antidiuretic)	Artere, rinichi
Ocitocină (oxitocină)	Uter, glanda mamară
c) Hormonul hipofizei intermediare:	
Melanotropină (MSH)	Celulele melanofore
2. Hormoni pancreatici:	
Insulină	Toate celulele
Glucagon	Ficat, țesut adipos
3. Hormonul ovarian (corpus luteum):	
Relaxin	Ligamentele simfizei pubiene
4. Hormonul tiroidian:	
Calcitonină (tirocalcitonină)	Sistemul osos, rinichi
5. Hormonul paratiroidian:	
Paratirin (hormonul paratiroid)	Sistemul osos, rinichi
6. Hormoni produși de rinichi:	
Eritropoietină	Măduva osoasă
Renină	Cortexul suprarenal
7. Hormoni gastrointestinali (tractul alimentar)	
Gastrine	Stomac
Secretină	Pancreas
Colecistokinină	Duoden
Pancreozimină	Pancreas
8. Hormoni tisulari:	
Angiotensine	Arteriole
Kinine	Arteriole
B. *Derivați ai aminoacizilor:*	
1. Hormonii tiroidieni	
Tiroxina și triiodtironina	Majoritatea celulelor
2. Hormonii medulosuprarenali	
Noradrenalină	Majoritatea celulelor
Adrenalină	Majoritatea celulelor
3. Hormonul epifizar	
Melatonină	Celulele melanofore
4. Neurohormoni (hormoni produși de nervi și de alte celule)	
Serotonină	Arteriole, sistemul nervos central
C. *Steroide și prostaglandine*:	
1. Hormoni produși de testicule	
Testosteronă	Majoritatea celulelor
2. Hormoni produși de ovare	
Estradiol	Majoritatea celulelor
3. Hormoni produși de corpus luteum	
Progesteronă	Majoritatea celulelor
4. Hormonii corticosuprarenali	
Corticosteronă	Majoritatea celulelor
Cortizol	Majoritatea celulelor
Aldosteronă	Rinichi
5. Hormoni produși de diferite țesuturi	
Prostaglandine	Mușchii netezi

Scanned with OKEN Scanner

7.9. CARACTERIZAREA CHIMICĂ ȘI BIOCHIMICĂ A HORMONILOR CU STRUCTURĂ PEPTIDICĂ ȘI PROTEICĂ

7.9.1. HORMONI HIPOFIZARI

Între diferitele glande endocrine există o anumită ierarhie, în care hipofiza este glanda supraordonată, întrucît hormonii produși de ea acționează asupra altor glande. Acest fapt denotă că activitatea țesutului hormonal este dirijată pe cale hormonală, iar hormonii hipofizari sînt cei care asigură dezvoltarea celorlalte glande, precum și secreția de hormoni de către acestea. Mai întîi anumiți centri diencefalici produc substanțe de tip neurosecretor (v. Hormoni hipofizotropi sau factori de eliberare hipotalamici), care ajung pe cale neurală în adenohipofiză, unde stimulează eliberarea hormonului corticotropină. Acesta apoi, în calitate de hormon glandotrop, acționează asupra corticalei suprarenale, incitînd secreția hormonilor corticosteroizi, care apar în cantitate mărită în torentul circulator. Hipofiza, pe baza unui mecanism de retrorelație își reglează activitatea secretorie în funcție de concentrația hormonilor periferici circulanți.

Deși hipofiza este glanda endocrină supraordonată, ea nu este unicul „dirijor" al secreției hormonale, întrucît la creșterea concentrației în hormoni periferici în sînge are drept consecință inhibiția corespunzătoare a glandei supraordonate. Pe de altă parte, celelalte glande sînt influențate și de sistemul simpatic vegetativ, iar centrul reglării nervoase al întregului sistem endocrin se află în hipotalamus.

7.9.1.1. HORMONI ADENOHIPOFIZARI

Această grupă cuprinde 7 hormoni, atît cu structură peptidică, cît și proteică.

Hormonul somatotrop sau de creștere (GH sau STH). Acest hormon este produs de către celulele eozinofile ale adenohipofizei.

Din punct de vedere chimic, hormonul somatotrop este o proteină formată din 200—400 aminoacizi, avînd două catene polipeptidice. Se disting mai mulți hormoni de creștere, în funcție de masa moleculară și de specia animală de la care provin. Astfel, s-au obținut:

— *somatotropină* de bovine (cu masă moleculară de 46 000, și avînd în structură 396 aminoacizi);

— *somatotropină* de maimuțe (cu masă moleculară de 25 000, și avînd în structură 241 aminoacizi);

— *somatotropină* umană (cu masă moleculară de 27 000, și avînd în moleculă 245 resturi de aminoacizi).

De asemenea, s-au izolat somatotropine de ovine și de suine.

Secreția hormonilor de creștere este stimulată de către hormonul hipofizotropic sau factorul de eliberare GRF (Growth Hormone Releasing Factor = factor de eliberare a hormonului de creștere), numit și somatoliberin. Existența acestui GRF a fost confirmată experimental prin cercetări fiziologice și clinice. Este de natură polipeptidică. Somatostatina, care este un factor hipotalamic, inhibă eliberarea somatotropinei.

Funcțiile biochimice ale hormonului de creștere sînt foarte complexe, întrucît nu are un organ de stimulare specific, ci stimulează toate țesuturile.

Scanned with OKEN Scanner

Este o substanță activă de o deosebită importanță în stimularea și reglarea creșterii postnatale la toate vertebratele. Prin îndepărtarea hipofizei la animalele tinere, creșterea lor este întîrziată, iar în cele din urmă este oprită. Carența în somatotropine duce la nanism.

Principalele efecte ale hormonului de creștere sînt:

— stimularea biosintezei proteinelor și ameliorarea valorificării albuminelor, în sensul creșterii valorii bilanțului azotat;

— influențează metabolismul glucidelor și al lipidelor în direcția mobilizării lipidelor și catabolizarea lor, precum și de formare a glucidelor;

— stimulează creșterea oaselor și facilitează valorificarea ionilor de Ca^{2+} și de PO_4^{3-}.

Efectul stimulant al GH este facilitat de hormonii tiroidieni iodurați și de insulină. ACTH are un efect antagonist cu GH, dar el stimulează gluconeogeneza, ceea ce are drept consecință o creștere a concentrației glucozei sanguine. Dealtfel, ACTH și GH sînt denumiți și factori diabetogeni.

Secreția mărită de GH duce la gigantism, ceea ce constă într-o creștere exagerată a oaselor lungi și a coloanei vertebrale.

Ca urmare a unei supraproducții de GH după încheierea creșterii se observă o îngroșare a extremităților, creșterea în volum a limbii, îngroșarea pielii, o mărire a urechilor. Organele interne prezintă de asemenea măriri în volum (splanhnomegalie). Boala caracterizată prin creșterea extremităților corporale este denumită *acromegalie*.

Hormoni endocrinotropi sau glandotropi. Acești hormoni sînt secretați de celulele acidofile, cu excepția hormonului luteotrop, care este produs de către celulele eozinofile. Hormonii din această grupă au drept de alegere asupra celorlalte glande endocrine, asigurînd atît dezvoltarea, cît și funcția glandei dirijate, dar de către unul și același hormon. Întrucît acești hormoni asigură dezvoltarea unei glande, ei se numesc *tropine*, dar și funcția acelei glande, de unde și denumirea de *stimuline*.

Principalii hormoni endocrinotropi sînt: corticotropina și tirotropina.

Hormonul corticotrop sau adrenocorticotrop (ACTH). A fost caracterizat din punct de vedere structural și a putut fi obținut pe cale de sinteză în 1963.

Din adenohipofiza diferitelor specii animale s-au izolat preparate cu mase moleculare cuprinse între 45 000 și 46 000, conținînd 39 aminoacizi și cu un procent de 2,3 % sulf. În catena polipeptidică a hormonului se distinge o zonă cu caracter bazic, care conține un fragment din Liz-Liz-Arg-Arg și alta cu caracter acid, constituită din resturi de acid aspartic și acid glutamic. În funcție de specia animală se disting diferite specii de ACTH. ACTH uman are următoarea structură:

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Ser-	Tir-	Ser-	Met-	Glu-	His-	Phe-	Arg-	Tri-	Gli-	Liz-	Pro-	Val

24	23	22	21	20	19	18	17	16	15	14
Pro-	Tir-	Val-	Liz-	Val-	Pro-	*Arg-*	*Arg-*	*Liz-*	*Liz-*	Gli

25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39
Asp-	Ala-	Gli-	*Glu-*	*Asp-*	*Glu-*	Ser-	Ala-	Glu-	Ala-	Phe-	Pro-	Leu-	Glu-	Phe

ACTH uman

ACTH unor specii de animale (bou, oaie, porc) se deosebeşte de cel uman prin secvenţa aminoacizilor din poziţiile 25—32:

bou: Asp-Gli-Glu-Ala-Glu-Asp-Ser-Ala

oaie: Ala-Gli-Glu-Asp-Asp-Glu-Ala-Ser

porc: Asp-Gli-Ala-Glu-Asp-Glu-Leu-Ala

$$\begin{array}{c} \text{Glu} \\ | \\ NH_2 \end{array}$$

25 26 27 28 29 30 31 32

Primii 24 aminoacizi sînt identici la diferite specii şi reprezintă fragmentul activ al hormonului. Totodată, secvenţa primilor 13 aminoacizi este identică cu hormonul numit melanotropină (α-MSH).

Secreţia ACTH este realizată de către celulele acidofile ale hipofizei, dar este influenţată de concentraţia în hormoni corticosteroizi circulanţi, precum şi de o serie de factori fizici (stări psihice, excitaţii termice, infecţii, răniri etc.). Secreţia specifică a ACTH şi eliberarea în circulaţie sînt realizate de hormonul hipofizotrop (Corticotropin Releasing Factor = CRF). Acest CRF este o peptidă, ca de exemplu, 8-Liz-vasopresină sau 8-Arg-vasopresină. Din hipotalamus s-au izolat două substanţe: α_1-CRF şi α_2-CRF, care au aceeaşi secvenţă de aminoacizi ca şi α-MSH. O serie de peptide sintetice, ca de exemplu, Met-Glu-His-Phe-Arg-Tri-Gli, stimulează eliberarea de ACTH, ceea ce denotă că CRF are o structură peptidică relativ simplă, asemănătoare cu a vasopresinei, cu a α-MSH, de unde şi strînsa lor legătură structurală şi funcţională.

Rolul biologic major al ACTH constă în stimularea corticosuprarenalei în secreţia hormonală. Acest rol constă în stimularea corticosuprarenalei în adaptarea acestei glande la secreţia de hormoni glucocorticosteroizi pentru necesităţile imediate ale organismului. Intervine, de asemenea, în biosinteza hormonilor steroidici, întrucît stimulează specific zonele fasciculată şi reticulată din cortexul suprarenal, care produc hormonii steroidici androgeni şi glucocorticosteroizi. La nivelul celor două zone ale cortexului suprarenal, ACTH provoacă creşterea concentraţiei intracelulare a AMP-ciclic, care la rîndul său stimulează activitatea fosforilazelor. Aceste consecinţe apar prin intermediul metabolismului glucozo-6-fosfatului şi a enzimelor cu NADPH. Acestea din urmă constituie o importantă sursă de energie în sinteza corticosteroizilor.

ACTH mai acţionează în stimularea transportului activ al glucidelor, prin creşterea glicogenului hepatic cu hiperglicemie şi glicozurie. În acest caz glucoza provine din aminoacizi şi din acizi graşi. În aceste condiţii, rezistenţa insulinei este mărită. ACTH determină lipogeneza, retenţia apei şi a ionilor de sodiu.

În prezenţă de ACTH, eliminarea azotului amoniacal creşte, ca urmare a transformărilor excesive a aminoacizilor. După inoculare de ACTH, conţinutul în acid ascorbic şi în colesterol scade la nivelul suprarenalelor. Reducerea concentraţiei în acid ascorbic este utilizată ca test în determinarea activităţii şi efectului ACTH.

Hormonul tireotrop (TSH). Acest hormon are acţiune de stimulare asupra glandei tiroide, de aceea mai poartă denumirea de tireotropină şi de tireostimulină.

Scanned with OKEN Scanner

Din punct de vedere structural, TSH este o glicoproteidă, avînd variații de compoziție, cu mase moleculare de 10 000, 30 000 și chiar 40 000. Conținutul în glucoză este de aproximativ 6 %. Mai conține aminoglucide și aminoacizi cu sulf.

Secreția TSH și controlul acesteia este efectuat de TRF (Tyreotrop Releasing Factor). De asemenea, depinde și de raportul dintre secreția de ACTH și TSH. În situația în care secreția de ACTH este mărită are loc o suprimare a TSH, iar acolo unde concentrația TSH este mare, cea a ACTH este redusă. Tiroxina reduce sensibilitatea TRF față de celulele producătoare de TSH.

Rolul biologic al hormonului tireotrop constă în acțiunea sa asupra glandei tiroide. În funcție de activitate se cunosc mai multe tipuri de hormoni TSH, și anume: TSHg (hormon ce favorizează creșterea masei celulare a glandei tiroide; *g*, de la engl. *growth* = creștere), TSHm (hormon ce stimulează biosinteza hormonilor tiroidieni iodurați; *m*, de la metabolic) și EPS (substanță ce stimulează producerea exoftalmiei). EPS este o glicoproteidă cu masă moleculară de 40 000, care se află în adenohipofiza diferitelor specii animale și în sîngele indivizilor cu exoftalmie. Caracteristica activității EPS constă în producerea de mucopoliglucide bogate în sulf.

Efectul TSH asupra tiroidei constă în favorizarea biosintezei hormonilor tiroidieni iodurați intervenind în fixarea iodului de către glanda tiroidă și utilizarea acestuia în biosinteza iodtironinelor. TSH manifestă acțiune în mărirea metabolismului bazal și în scăderea glicogenului hepatic. O concentrație mărită de hormoni tiroidieni iodurați în sînge duce la o limitare în eliberarea TSH, în timp ce o concentrație scăzută de hormoni tiroidieni în sînge măresc eliberarea TSH.

Hormoni gonadotropi. Se cunosc o serie de hormoni produși de adenohipofiză, care sînt secretați pe măsura maturizării sexuale și au rolul de a controla creșterea și dezvoltarea glandelor sexuale la masculi și femele, de aceea ei se mai numesc și hormoni sexotropi. Eliberarea lor are loc în mod continuu la masculi și ciclic la femele. Gonadotropii sînt identici pentru ambele sexe, fiind glicoproteide, și stimulează activitatea glandelor genitale, fără deosebire de sex, ceea ce face să se deosebească de hormonii sexuali. În acest fel, hipofiza se situează ca motor al funcțiilor sexuale. Acești hormoni prezintă totuși o oarecare specificitate de specie. Astfel, cei din hipofiza umană sînt mai activi biologic decît cei de la animale.

Hormonul folitrop (FSH). Acest hormon mai poartă denumirile de prolan A, foliculomaturizant sau foliculostimulant.

Din punct de vedere structural FSH este o glicoproteidă, care diferă de la o specie la alta. Masa moleculară a acestor varietăți glicoproteidice variază între 25 000 și 30 000. În molecula FSH se găsesc pe lîngă aminoacizi, unele hexoze (1,23 % galactoză și manoză) și aminoglucide (1,5 %, în care predomină acidul neuraminic).

Secreția hormonului foliculostimulant este coordonată de către factorul de eliberare specific produs de hipotalamus (FRF = Follicule-Stimulating Hormone Releasing Factor). FRF este de natură polipeptidică în care intră și unele poliamine.

Rolul biologic al FSH. La femele, facilitează creșterea și dezvoltarea glandelor sexuale. El inițiază ciclul genital prin maturizarea foliculilor ovarieni (creșterea lor în dimensiuni) și influențează producerea de hormoni estrogeni. FSH asigură dezvoltarea oului și desprinderea acestuia din foliculul ovarian și migrarea lui în uter. El contribuie și la dezvoltarea uterului.

Scanned with OKEN Scanner

La masculi, acest hormon acționează asupra celulelor germinative ale testiculului și stimulează spermatogeneza, fapt pentru care este denumit și hormon stimulant al celulelor interstițiale (ICSH). Rolul lui biochimic constă în stimularea steroidogenezei.

În acțiunea FSH, răspunzătoare de activitate este partea glucidică, iar la hidroliza acesteia, îndeosebi a restului de acid neuraminic, activitatea acestui hormon încetează.

Hormonul luteotrop (LH). Hormonul luteotrop sau hormonul luteinizant stimulează producerea hormonilor sexuali în celulele interstițiale, motiv pentru care este simbolizat și ICSH. Mai poartă denumirea de prolan B. Denumirea LH provine de la efectul său de transformare a foliculului în corp galben.

Din punct de vedere structural, LH este o glicoproteidă, cu masă moleculară ce diferă de la o specie animală la alta. Astfel, LH provenit din hipofiza de suine are masa moleculară de 100 000 și conține 2,2 % hexozamine, iar cel din hipofiză de ovine de 40 000 și cu un conținut de 6,8% hexozamine.

Secreția LH este controlată de factorul de eliberare LRF (Luteinising Hormone Releasing Factor). LRF este o polipeptidă, cu masă moleculară relativ mică, de circa 25 000.

Rolul biologic al LH. La femele, unde se găsește în ambele faze ale ciclului sexual, stimulează maturarea foliculilor, cu secreția hormonilor estrogeni. De asemenea, stimulează ovulația, formarea corpului galben, care constă în reglarea acumulării carotinoidelor în ovar. La masculi, hormonul luteinizant stimulează producerea hormonilor androgeni în celulele interstițiale și dezvoltarea caracterelor sexuale secundare masculine.

Hormonul prolactină sau mamotrop (LTH). Prolactina poartă și denumirile de: hormon lactogen și lactotrop. Se află atît la mamifere, cît și la nemamifere, cum sînt de exemplu, amfibiile. În cantitate mai mare se găsește în adenohipofiza de vacă și de oaie, în timp ce la iapă și la scroafă cantitatea lui este redusă.

Structura chimică a LTH este diferită de la o specie animală la alta. Din adenohipofiză de oaie s-a izolat LTH cu masă moleculară de 24 000 și cu o secvență în aminoacizi parțial cunoscută, în care predomină acidul glutamic (14,1%) și acidul aspartic.

Secreția LTH este realizată de un factor neural specific, dar încă lipsesc informațiile cu privire la natura chimică a acestuia. Acest factor, PIF (factor de inhibare a prolactinei) și PRF (factor de eliberare a prolactinei) este de origine hipotalamică. Controlul secreției hipotalamice se deosebește de situația generală, deoarece în eliberarea prolactinei intervine de fapt un factor inhibitor și altul stimulator.

Rolul biologic al prolactinei este destul de complex. Acționează asupra secreției glandei mamare, prin mărirea atît a cantității de țesut glandular, cît și producția de lapte. LTH favorizează producerea lactozei în glanda mamară, în perioada de lactație, efect ce constă în economisirea monoglucidelor, de unde rezultă și acțiunea hiperglicemiantă, respectiv diabetogenă. La multe animale, LTH declanșează instincte materne și psihoze de lactație. În urma administrării LTH unui clapon, el devine cloșcă. LTH are și o acțiune caracteristică de producere a progesteronei și de maturare a corpului galben din ovar.

La porumbel, LTH produce o descompunere a celulelor din gușă, cu formarea unui lichid lăptos, care reprezintă hrana puiului.

Scanned with OKEN Scanner

Hormonul lipotrop. Acest adenohipofizar are molecula alcătuită din 46 resturi de aminoacizi și conține un fragment heptapeptidic care este identic cu α-melanotropină, fapt ce sugerează legătura funcțională și structurală dintre acești hormoni.

Hormoni placentari sau gonadotropine urinare. În urina animalelor gestante și a femeilor gravide se găsesc o serie de gonadotropine, care stau la baza multor diagnostice.

Din punct de vedere chimic, gonadotropinele urinare sînt glicoproteide și au o structură asemănătoare cu cea a hormonului lutrop, dar posedă un conținut ridicat în glucide. Gonadotropina umană corionică (GCH) este constituită din 231 aminoacizi și 55 monoglucide.

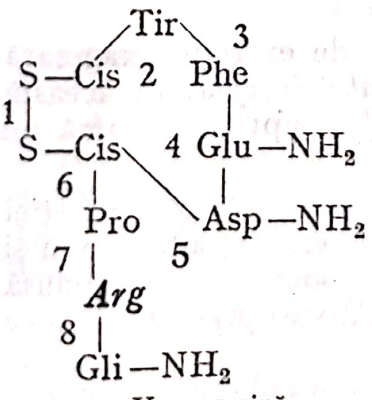
Originea hormonilor placentari nu este din hipofiză, ci din placentă, fiind secretați de corionul placentar. În urina gestantelor se află din a 30-a zi de gestație și atinge valori maxime în a 70-a zi. În sîngele iepelor gestante s-a pus în evidență o gonadotropină serică (GSH). Apare în sînge începînd cu a 40-a zi de gestație și atinge valori maxime în a 70-a zi.

Rolul biologic al hormonilor placentari este asemănător cu al gonadotropinelor hipofizare. Acești hormoni manifestă acțiune de stimulare a formării hormonilor steroidici progesteronici și estrogenici. Pentru animalele gestante, gonadotropinele urinare constituie un test eficace în stabilirea gestației.

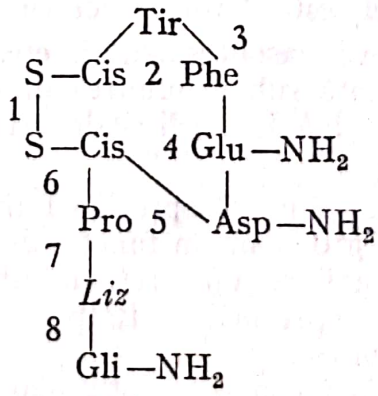
7.9.1.2. HORMONI NEUROHIPOFIZARI

Acești hormoni spre deosebire de cei adenohipofizari, au o structură simplă, fiind octapeptide. Ei au o specificitate de specie animală în privința conținutului și a naturii aminoacizilor din structura lor.

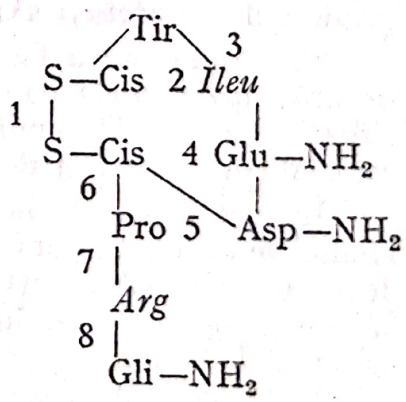
Hormonii neurohipofizari sînt asemănători între ei și anume *vasopresina* numită și adiuretină și *ocitocina.* Pentru vasopresină se cunosc două varietăți și anume arginin-vasopresină, care se află la cal, bou, oaie și om, și lizinvasopresină, întîlnită la suine, în funcție de aminoacidul din poziția 3 și din poziția 7. Astfel, arginin-vasopresina are izoleucină în poziția 3 în loc de fenilalanină, iar lizin-vasopresina are în poziția 7 lizină în loc de arginină.



Vasopresină



Lizin-vasopresină



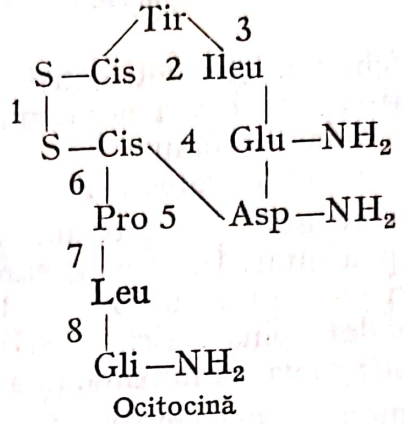
Arginin-vasopresină

Prin $Gli—NH_2$ se notează glicinamidă, prin $Asp—NH_2$ asparagină, iar prin $Glu—NH_2$ glutamină. Poziția 1 este ocupată de cistină, care, de multe ori se consideră că reprezintă doi aminoacizi, fapt pentru care hormonii neurohipofizari sînt considerați și nonapeptide.

Scanned with OKEN Scanner

Biosinteza lor se realizează în nucleul supraoptic și paraventricular din hipotalamus.

Secreția hormonilor neurohipofizari este realizată pe căi neurosecretoare, trecînd de-a lungul fibrelor nervoase ale tractului supraoptic în neurohipofiză, unde se depozitează și de unde sînt eliberați apoi în circulație.



Ocitocină

Reglarea deversării vasopresinei este realizată de hipotalamus, în care celulele ganglionare puternic vascularizate înregistrează modificările presiunii osmotice. La micșorarea presiunii osmotice vasopresina eliberată este în cantitate mică și în consecință se reduce resorbția apei și crește cantitatea de urină eliberată. O creștere a presiunii osmotice duce la o vărsare mărită de vasopresină, ceea ce are drept urmare formarea de urină concentrată.

Rolul biologic al vasopresinei constă în acțiunea ei în hipertensiune, de unde provine și denumirea sa. Acțiunea asupra presiunii arteriale este progresivă. Efectul hipertensiv are loc ca urmare a contracției fibrelor musculaturii netede din arteriole.

În timp ce la vertebratele inferioare vasopresina joacă un rol important în reglarea presiunii sanguine, la mamifere excluderea hipofizei nu are influență asupra presiunii sanguine.

Vasopresina îndeplinește o funcție biochimică deosebit de importantă la nivelul rinichilor, în stimularea resorbției apei în tubii renali, acțiune care a presupus mult timp existența unui alt hormon specific. Denumirea vasopresinei de adiuretină (ADH) este datorată acestui efect.

Prin diminuarea formării vasopresinei, cu efecte de excreție exagerată de apă, apare boala cunoscută sub denumirea de *diabet insipid*. În această situație, cabalinele elimină pînă la 80 litri de urină/zi, fapt ce reclamă un consum corespunzător de apă.

În metabolismul electroliților, vasopresina influențează asupra excreției ionilor de sodiu, de potasiu și de clor, în funcție de alimentația animalului și de natura ADH-ului. Astfel, kaliureza (excreția mărită de ioni K^+) este produsă la ovine de către arginin-vasopresină, în timp ce lizin-vasopresina produce kaliureză la canine, dar nu la ovine.

Rolul biologic al ocitocinei constă în stimularea musculaturii netede a uterului pe care o contractă, îndeplinind un rol important în expulzarea fătului. Reactivitatea uterului față de ociticină este diferită în fazele ciclului sexual. Cea mai mare reactivitate o are în estrus. Progesterona reduce reactivitatea uterului față de ocitocină în timpul gestației datorită concentrației ridicate de progesteronă, în așa fel că mușchiul uterin este insensibil la ocitocină. Spre sfîrșitul perioadei de gestație concentrația progesteronei scade și

Scanned with OKEN Scanner

crește concentrația în estrogeni, care sensibilizează mușchiul uterin și ocitocina devine tot mai reactivă. Cu toate acestea, ocitocina nu are acțiune avortivă, întrucît spre sfîrșitul perioadei de gestație, concomitent cu acțiunile hormonilor steroidici, crește concentrația în enzima specifică (ocitocinază) din plasma gestantelor, care distruge ocitocina. La expulzarea fătului activitatea acestei enzime scade brusc și lasă intactă molecula ocitocinei.

Ocitocina are acțiune și asupra glandei mamare în perioada de lactație. Acest efect se petrece asupra celulelor mioepiteliale de la nivelul căilor de eliminare a laptelui.

Acțiunile ocitocinei sînt legate de femelă, dar ea se află în aceeași cantitate și la masculi.

7.9.1.3. HORMONI AI HIPOFIZEI INTERMEDIARE

Hipofiza intermediară produce hormonul melanofor, cunoscut sub diferite denumiri ca: intermedină, melanocit-stimulator (MSH) sau melanotrop. Hipofizele mamiferelor conțin cantități însemnate de MSH.

Hormonul melanocit-stimulator este o oligopeptidă. Se cunosc două tipuri de MSH, și anume: α-MSH și β-MSH.

Structura chimică a α-MSH este identică cu fragmentul primilor 13 aminoacizi din ACTH, cu deosebirea că în α-MSH aminoacidul din poziția 1 este acetilat, iar în poziția 13 are o grupare NH_2 liberă.

1 13
Ac-Ser-Tir-Ser-*Met-Glu-His-Phe-Arg-Tri-Gli*-Liz-Pro-Val-NH_2
α-MSH

Pentru toate speciile de animale α-MSH-ul are aceeași structură chimică. Structura β-MSH prezintă diferențe de la o specie la alta, avînd la animale 18 aminoacizi, iar la om 22. Se cunosc cel puțin cinci tipuri de β-MSH.

1
Asp-Glu-Gli-Pro-Tir-Liz-*Met-Glu-His-Phe-Arg-Tri-Gli*-Ser-
18
Asp-Liz-Pro-Pro
β-MSH (de suine, bovine, cabaline)

α-MSH, β-MSH și ACTH au un fragment comun, constituit din 7 aminoacizi, și anume: Met-Glu-His-Phe-Arg-Tri-Gli. Acest fapt are profunde semnificații, și în acest fel se explică acțiunea melanocit-stimulatoare a ACTH (și depigmentarea pielii vertebratelor, care se știe că au hipofiza intermediară extrem de redusă).

Secreția și inhibarea secreției MSH este controlată de către hipotalamus, de către MRF (Melanocyte-Stimulating Hormone Releasing Factor) și de MIF (Melanocyte-Stimulating Hormone Inhibiting Factor), numit și melanoliberin, care sînt, probabil, peptide. Deversarea MSH este reglată de excitațiile luminoase, prin sistemul nervos. Excitațiile primite de retină sînt transmise prin nervul optic către nucleul suprasimpatic și de aici la hipofiză.

Rolul biologic al MSH constă în repartizarea granulelor de pigment în celulele de pigmentare ale pielii, îndeosebi la pești, amfibii și reptile, dar și la mamifere. Aceste animale inferioare sînt capabile să-și schimbe culoarea

Scanned with OKEN Scanner

corporală, dar în primul rînd este vorba de o adaptare a culorii pielii la mediul înconjurător. Rolul biochimic în pigmentarea pielii animalelor constă în activarea tirozinazei, care catalizează convertirea tirozinei în pigmenți melaninici. Lipsa MSH determină apariția albinismului.

7.9.2. HORMONI PANCREATICI

Hormonii pancreatici, insulina și glucagonul, sînt secretați de insulele Langerhans din pancreas, care sînt alcătuite din două tipuri de celule, și anume: celule β, care secretă insulină și celule α care produc glucagon. Aceste două tipuri de celule constituie fiecare cîte un organ endocrin net diferit din punct de vedere histologic și funcțional de pancreasul cu funcție exocrină, producător de enzime. Atît insulina, cît și glucagonul, sînt polipeptide.

Insulina. Acest hormon a constituit obiectul a numeroase cercetări îndeosebi asupra efectelor lui, care deseori au fost interpretate contradictoriu.

Structura chimică. Este o polipeptidă constituită din 51 aminoacizi și cu masă moleculară de 5750. În prezența ionilor metalici (Zn^{2+}, Mg^{2+}, Mn^{2+} etc.), în soluție apoasă, insulina se asociază cu ușurință în agregate cu mase moleculare de 12 000, 36 000 sau 48 000. Deoarece în pancreas se află suficienți ioni de Zn^{2+}, insulina formează un complex de zinc-insulină, formă sub care se află în mod normal în organism. Molecula de insulină este alcătuită din două catene polipeptidice, una formată din 21 aminoacizi (catena A) și alta din 30 aminoacizi (catena B), după cum reiese din figura 7.6.

Cele două catene A și B sînt unite prin legături disulfurice și au o configurație tridimensională elicoidală. Legăturile disulfurice și grupările hidroxilice și carboxilice libere sînt indispensabile activității hormonale. La transformarea lor, insulina își pierde proprietatea biologică.

Insulina provenită de la diferite specii diferă ca structură de cea de bovine prin structura celor patru aminoacizi din ciclul mic (pozițiile 7, 8, 9 și 10). În insulina de suine succesiunea aminoacizilor în aceste poziții este Cis-Tre-Ser-Ileu, la ovine Cis-Ala-Gli-Val, iar la cabaline Cis-Tre-Gli-Ileu. Insulina umană are o structură asemănătoare celei de suine, diferind doar printr-un singur aminoacid, și anume Ala în poziția 30 (din catena B). Totodată, insulina de suine este mai activă decît cea umană, iar la scindarea enzimatică a Ala terminale se obține o insulină identică celei umane (desalanin-insulină).

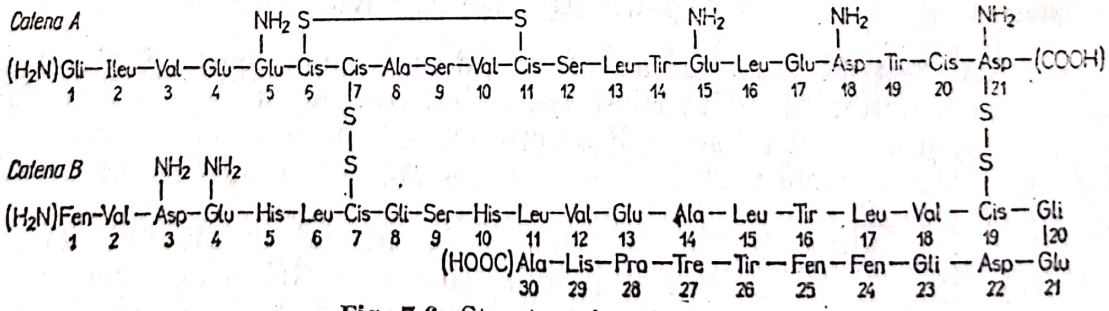


Fig. 7.6. Structura insulinei.

Biosinteza insulinei. Modul de formare a insulinei decurge dintr-un precursor macromolecular, denumit proinsulină, care este alcătuit din 84 aminoacizi și care este hidrolizat de tripsină pînă la insulină. Proinsulina rezultă din preproinsulină pe cale de scindare hidrolitică enzimatică:

Preproinsulină → Proinsulină → Insulină

Secreţia. Insulina formată în pancreas este eliberată în sînge, de unde este fixată repede, îndeosebi în ficat, rinichi şi muşchi. În secreţia insulinei sînt implicaţi mai mulţi compuşi, dintre care mai bine cunoscuţi sînt:

— *Glucoza*, care stimulează secreţia insulinei la concentraţia glucozei sanguine peste 70—100 mg/100 ml. Efectul maxim este la 300—500 mg glucoză la 100 mg sînge. Glucozamina este inhibitor;

— Hormonii gastrointestinali şi glucagonul;

— O serie de aminoacizi şi unii acizi organici.

Rolul biochimic al insulinei constă în intervenţia sa în metabolismul glucidelor, lipidelor şi protidelor.

— *Acţiunea insulinei în metabolismul glucidelor* constă în scăderea glicemiei, ca urmare a utilizării mărite a glucozei. În carenţa insulinică se constată hiperglicemii accentuate, glicozurie şi uneori cetonurie. Boala metabolică produsă de hipoinsulinemie este *diabetul zaharat.* În regnul animal, diabetul zaharat este întîlnit mai frecvent la cabaline. Simptomele mai evidente ale diabetului zaharat sînt hiperglicemia şi apariţia corpilor cetonici în sînge şi urină, concomitent cu creşterea concentraţiei acizilor graşi nesaturaţi în sînge şi în urină.

— *Acţiunea în metabolismul lipidelor* constă în stimularea lipogenezei în ficat şi în ţesutul adipos. De asemenea stimulează formarea lipoproteinelor;

— *Insulina stimulează biosinteza proteinelor,* ca urmare a activării aminoacizilor în pătrunderea lor în celulele musculare.

Glucagonul. *Structură chimică.* Este o polipeptidă alcătuită din 29 aminoacizi, cu o masă moleculară de 4 200 şi cu următoarea secvenţă:

NH_2

His-Ser-Glu-Gli-Tre-Phe-Tre-Ser-Asp-Tre-Ser-His-Tir-Leu-Asp-Ser
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16

Tre-Asp-Met-Leu-Tri-Glu-Val-Phe-Asp-Glu-Ala-Arg-Arg
29 28 27 26 25 24 23 22 21 20 19 18 17

N_2 NH_2 NH_2

Glucagon

Spre deosebire de insulină, glucagonul conţine aminoacizi: triptofan şi metionină, dar nu conţine prolină, izoleucină şi cisteină.

Secreţia glucagonului de către celulele α ale pancreasului este stimulată de glucoză şi inhibată specific de săruri de Co^{2+}.

Rolul biochimic al glucagonului este cel de producere de hiperglicemie, care constă în inducerea hidrolizei glicogenului şi în inhibarea resintezei glicogenului din glucozo-6-fosfat. În acest mod se explică acţiunea antagonistă a glucagonului în comparaţie cu cea a insulinei.

Acţiunea glucagonului este mediată de AMP-ciclic. De asemenea, glucagonul este mai potenţat decît adrenalina în stimularea adenilatciclazei hepatice.

7.9.3. RELAXINA

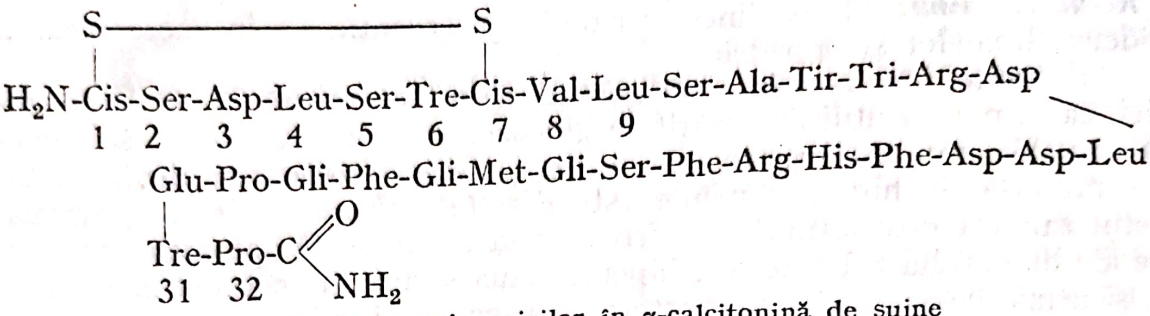
Este un hormon produs de *corpus luteum*, cu structură proteică, de masă moleculară 12 000. Rolul biologic al relaxinei constă în facilitatea flexibilităţii simfizei pubiene şi asigurarea unei naşteri normale.

Scanned with OKEN Scanner

7.9.4. CALCITONINA SAU TIROCALCITONINA

Acest hormon a fost izolat din tiroida de suine. În cantități relativ mari, se află în tiroida animalelor tinere, dar este prezentă în tiroida tuturor mamiferelor.

Structura chimică. Calcitonina de suine este o polipeptidă formată dintr-o singură catenă, cuprinzînd 32 resturi de aminoacizi.



Secvența aminoacizilor în α-calcitonină de suine

Puntea disulfidică intracatenară între aminoacizii 1 și 7 constituie un ciclu, care se află și în vasopresină și în ocitonină.

Secreția calcitoninei este dependentă de activitatea adenilatciclazei și se realizează în mod continuu.

Rolul biochimic major al calcitoninei constă în activitatea hipocalcică și hipofosfatemie. De asemenea, blochează acțiunea paratirinei.

7.9.5. PARATIRINUL SAU HORMONUL PARATIROIDIAN

Glandele paratiroide secretă un hormon de utilitate vitală pentru organismele animale, denumit paratirin sau parathormon (PTH).

La animalele domestice sînt dezvoltați 4 corpusculi epiteliali, dintre care 2 se află pe sau în glanda tiroidă, cum sînt la cabaline și carnasiere, sau la nivelul bifurcației arterei carotide comune, ca de exemplu la rumegătoare și la suine. Acești corpusculi sînt responsabili în secreția de parathormon.

Structură chimică. Din punct de vedere chimic, paratirinul este o polipeptidă formată din 84 aminoacizi. În anumite condiții parathormonul se dezagregă în polipeptide cu molecule mai mici, dar de activitate biologică ca și cea hormonului propriu-zis. O caracteristică a polipeptidelor cu acțiune hormonală paratiroidiană este absența cisteinei din molecula lor. Prin oxidare, parathormonul este distrus destul de repede.

Secreție. Secreția parathormonului are loc la toate vertebratele. Capacitatea de secreție a acestui hormon depinde de constituția animalului. Astfel, animalele care au capacități reduse de a sintetiza și a secreta parathormon, din cauza unor dereglări funcționale de natură genetică, prezintă o predispoziție pentru tetanie, chiar și în cazul unei alimentații normale sau bogate în ioni de calciu. Activitatea normală a glandelor paratiroide este influențată de conținutul serului de calciu.

În secreția acestui hormon este prezentă peptida *proparatirin* cu 90 aminoacizi, conținînd un fragment cu 6 resturi de aminoacid. Produsul biosintetic este *preproparatirin*, care are în plus 26 resturi aminoacizi, un produs polipeptidic:

Preproparatirin → Proparatirin → Paratirin

Scanned with OKEN Scanner

Rolul biochimic. Acţiunea paratirinului este de durată scurtă, de circa 2—3 ore. În organismele animale parathormonul are rolul de a regla calcemia, respectiv în menţinerea mediului ionic de Ca^{2+} şi de PO_4^{3-}. Este cunoscut faptul că, conţinutul de calciu în sînge sau calcemia este una din valorile biologice cele mai constante, care se situează în jur de 10 mg%. Menţinerea calcemiei constante se realizează printr-un mecanism complex.

Reglarea metabolismului fosfocalcic se realizează la intervenţia mai multor hormoni, dar principalul hormon în această serie de verigi hormonale este parathormonul. Acest hormon mobilizează ionii de Ca^{2+} şi inhibă reabsorbţia ionilor HPO_4^{2-}, acţiune contrară calcitoninei. La animalele cu funcţiune paratiroidiană normală, parathormonul determină creşterea calcemiei şi a eliminării de Ca^{2+} prin urină, precum şi scăderea fosfatemiei şi creşterea conţinutului de fosfat în urină. Carenţa parathormonului duce repede la scăderea valorii serice a ionilor Ca^{2+}.

Hipocalcemia, hiperfosfatemia şi alcaloza sanguină sînt simptome umorale caracteristice ale tetaniei paratiroidiene.

7.9.6. HORMONI PRODUŞI DE RINICHI

Rinichiul produce doi hormoni şi anume: eritropoietină şi renină.

Eritropoietina este produsă de celulele sîngelui şi este în funcţie de concentraţia în oxigen a ţesuturilor. În condiţii cum sînt anemia, hemoragia sau diminuarea conţinutului în oxigen al aerului inspirat cauzează o descreştere în transportul de oxigen la ţesuturi şi stimulează eliberarea eritropoietinei.

Eritropoietina este produsă de multe ţesuturi, dar locul major este rinichiul. Are structură proteică.

Renina se află la toate animalele, îndeosebi la cele domestice. Acest hormon mediază efectele sale biologice prin angiotensină care stimulează producerea aldosteronei de cortexul suprarenal.

7.9.7. HORMONI GASTROINTESTINALI

Aceşti hormoni sînt secretaţi de tubul digestiv. Mai importanţi sînt: gastrinele, secretina, pancreozimina şi colecistokinina.

Gastrinele sînt polipeptide secretate de muscoasa gastrică. Se cunoaşte gastrina I şi gastrina II:

1 17

Pro-Glu-Pro-Tri-Leu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ala-Tir-Glu-Trp-Met-Asp-Phe

Gastrina I ↓

17

Pro-Glu-Pro-Tri-Leu-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ala-Tir-Glu-Trp-Met-Asp-Phe

|

O—SO_3H

Gastrina II

Gastrina II este esterul sulfuric al tirozinei din gastrină.

Rolul lor biochimic constă în stimularea secreţiei de HCl în sucul gastric şi a pepsinei.

Scanned with OKEN Scanner

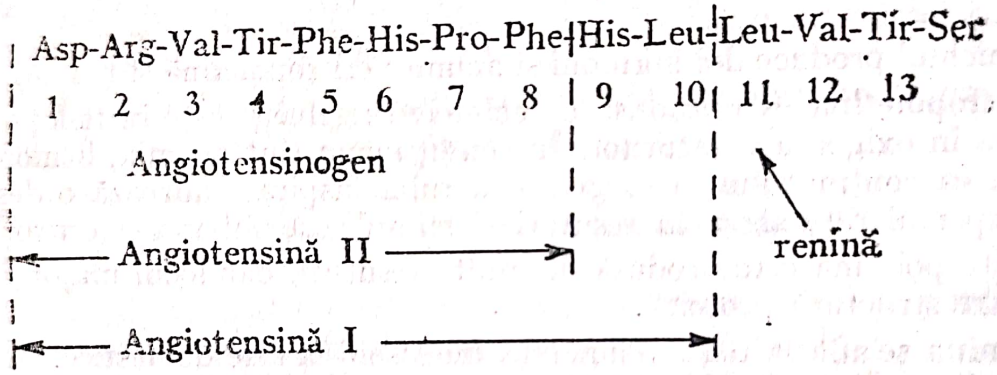
Secretina este o polipeptidă formată din 27 aminoacizi. Este secretată de mucoasa intestinului subțire și apoi transportată pe cale sanguină la pancreas. Rolul biochimic al secretinei constă în stimularea pancreasului în secreția apei și a bicarbonaților.

Pancreozimina și **colecistokinina** sînt polipeptide formate din 33 aminoacizi. Pancreozimina stimulează secreția enzimelor pancreatice, în timp ce colecistokinina excită musculatura vezicii biliare.

7.9.8. HORMONI TISULARI

Acest grup de hormoni sînt polipeptide active biologic care nu sînt secretați de glande specializate, dar care se formează prin hidroliza enzimatică limitată din precursori proteici inactivi prezenți în plasma sanguină. Mai importanți sînt angiotensinele și kininele.

Angiotensine. Sînt peptide. Se cunoaște o angiotensină I (o decapeptidă și angiotensină II (o octapeptidă). Ambele au ca precursor o α_2-globulină, numită angiotensinogen.



Rolul angiotensinelor constă în acțiunea lor hipertensivă printr-o vasoconstricție a arteriolelor.

Kinine. Se cunosc multe kinine dintre care mai importante sînt:

Bradikinina: Arg-Pro-Pro-Gli-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg

Kalidina: Liz-Arg-Pro-Pro-Gli-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg

Kininele sînt polipeptide hipotensoare ca urmare a acțiunii lor vasodilatatoare.

În grupa hormonilor tisulari sînt incluse aminele biogene: histamina, tiramina și triptamina.

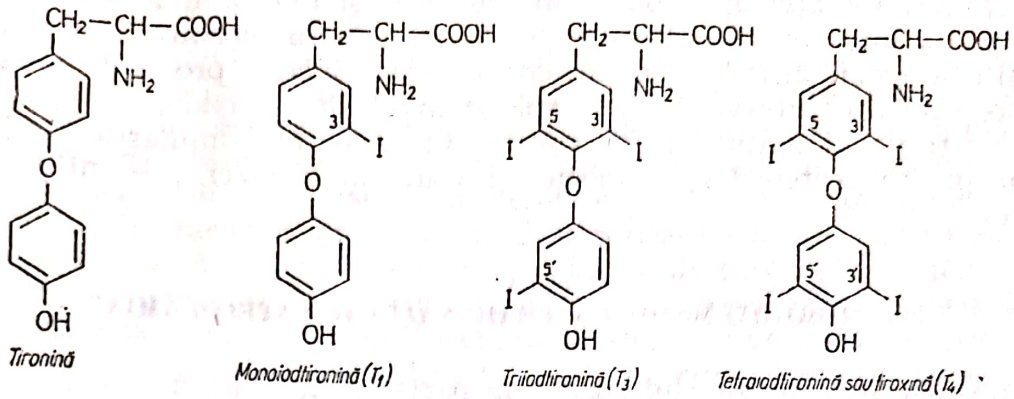
7.10. CARACTERIZAREA CHIMICĂ ȘI BIOCHIMICĂ A HORMONILOR DERIVAȚI DIN AMINOACIZI

7.10.1. HORMONI TIROIDIENI SAU IODTIRONINE

Tiroida poate sintetiza, depozita și deversa în sînge atît hormoni iodurați sau iodtironine, cît și un hormon neiodurat, numit calcitonină.

Scanned with OKEN Scanner

Iodtironine. *Structura hormonilor iodtironinici.* Acești hormoni sînt derivați ai tironinei și se cunosc trei compuși iodurați cu activitate hormonală:



În stare normală, tiroida conține aproape întreaga cantitate de hormon tiroidian sub formă de tiroglobulină. Complexul de iodtironine din sînge și tiroidă reprezintă hormonul tiroidian circulant.

Biosinteză. Formarea acestor hormoni se realizează în foliculii tiroidei. Iodul adus prin alimentație, sub formă de anion I^-, este absorbit prin intestin și preluat de sînge și transportat la tiroidă. Acest I^- este oxidat în glandă la iod elementar:

$$H_2O_2 + 2I^- + 2\,H^+ \xrightarrow[\text{peroxidază}]{} 2I + 2H_2O$$

Iodul elementar iodurează restul de tirozină, dar numai pe cel încorporat în molecula tiroglobulinei; în urma unui proces de cuplare oxidativă rezultă tiroglobulina cu tironină iodurată care este apoi hidrolizată. Procesul biosintetic este redat în figura 7.7.

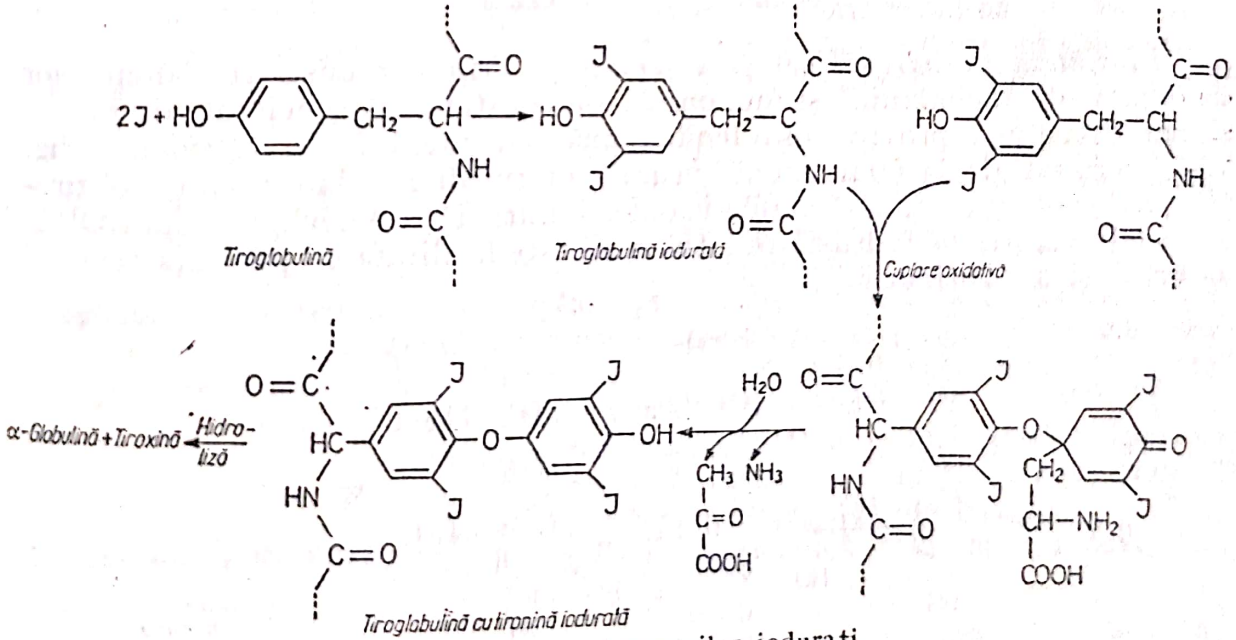


Fig. 7.7. Biosinteza hormonilor iodurați.

Secreția. Eliberarea iodtironinelor este realizată de factorul de eliberare TRF, care prin intermediul AMP-ciclic intervine în eliberarea de TSH. Acest TSH activează hidroliza enzimatică a tiroglobulinei iodurate.

Rolul biochimic. Iodtironinele se află legate în proporție de 99 % de proteinele plasmatice. Forma liberă reprezintă hormonul activ. Acțiunile

Scanned with OKEN Scanner

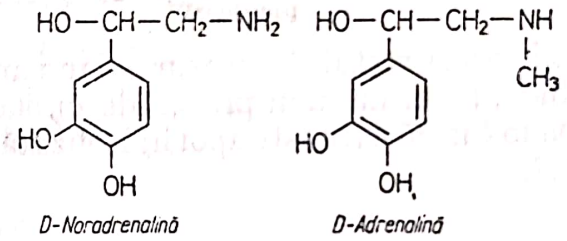
majore ale iodtironinelor pot fi cuprinse în trei grupe: acțiune somatotropă, calorigenă și trofică generală.

Acțiunea somatotropă constă în creșterea și dezvoltarea organismului, ca urmare a intervenției iodtironinelor în stimularea biosintezei proteinelor. Efectul calorigenic al iodtironinelor constă în stimularea proceselor de oxido-reducere celulară, intervenind în cuplarea oxidării cu oxidarea fosforilantă. Rolul de trofic al iodtironinelor constă îndeosebi în stimularea biosintezei proteinelor, lipoproteinelor plasmatice și a adenilatciclazei, precum și a altor procese.

7.10.2. HORMONI MEDULOSUPRARENALI SAU CATECOLAMINE

Capsulele suprarenale sînt situate la partea superioară a rinichilor și sînt alcătuite din două părți *corticosuprarenală* sau cortex și din *medulosuprarenală*, care aparține sistemului de țesuturi adrenalinice. Cele două părți morfologice ale suprarenalelor posedă funcții hormonale și fiziologice cu totul diferite.

Structura chimică a catecolaminelor. Pînă în prezent s-au cercetat, izolat și sintetizat doi hormoni medulosuprarenali și anume: adrenalina, numită și epinefrină și noradrenalina sau norepinefrină. Adrenalina este derivatul metilat al noradrenalinei.



Biosinteza noradrenalinei și adrenalinei. Prin administrarea animalelor de experiență fenilalanină și metionină, s-a constatat că scheletul adrenalinei și noradrenalinei provine din fenilalanină, iar metilul din metionină (fig. 7.8). Pornind de la fenilalanină, primul intermediar al biosintezei este tirozina, care este apoi oxidată la dihidroxifenilanină (DOPA), în prezența DOPA-oxidazei. Reacția de hidroxilare a tirozinei este facilitată de prezența acidului ascorbic și a tirozinazei.

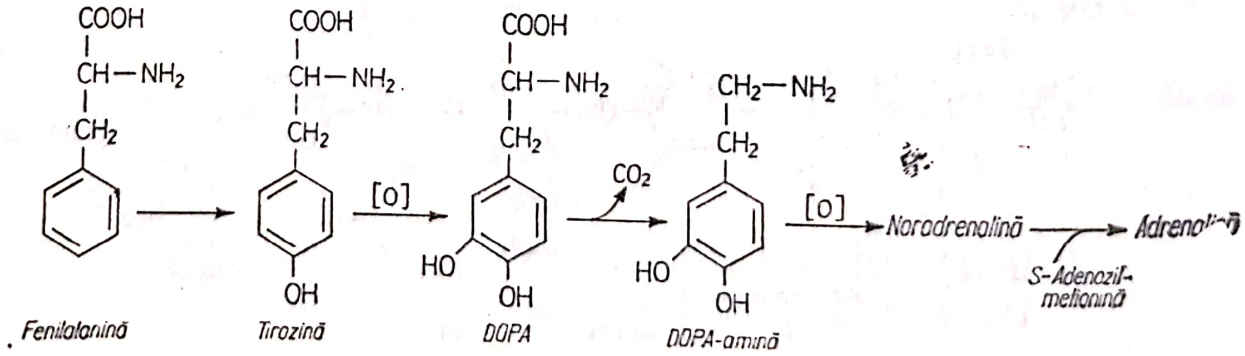


Fig. 7.8. Biosinteza noradrenalinei și adrenalinei.

Biosinteza hormonilor medulosuprarenali trece obligatoriu prin intermediarul DOPA, avînd loc mai întîi un proces de hidroxilare a ciclului benzenic și numai după aceea reacția de decarboxilare. Ultima reacție fiind cea de metilare la gruparea aminică.

Scanned with OKEN Scanner

Etapa de metilare a noradrenalinei în adrenalină se realizează în medulosuprarenală și în sistemul nervos simpatic.

Sediul biosintezei hormonilor medulosuprarenali îl constituie mitocondriile.

Secreția hormonilor medulosuprarenali este realizată de medulosuprarenală, dar nu în mod continuu, ci cu intermitență și numai sub influența unor factori, cum sînt: frig, medicamente, stare psihică, activitate musculară intensă, durere, teamă etc. Eliberarea este stimulată de o serie de factori farmacologici, cum sînt: histamina, serotonina, săruri de potasiu etc. Astfel, acetilcolina din neuronii preganglionari stimulează celulele pentru eliberarea catecolaminelor. Acești hormoni sînt produși și de către alte țesuturi. Astfel, adrenalina este produsă de măduva glandelor suprarenale în proporție de 80%.

Repartiția și proporția lor în organism depinde de țesut, de specie și de vîrstă, dar predominînd adrenalina în toate cazurile. Procentul de adrenalină față de totalul de hormoni medulosuprarenali la oaie este de 60—80% în medulosuprarenală, 10—20% în inimă, 10—11% în rinichi, 4—7 % în ficat și 0,3 % în splină.

Depozitarea catecolaminelor se face în mare măsură în medulosuprarenale, de circa 10 mg catecolamine la 1 g țesut. În sînge, noradrenalina se află sub formă liberă, iar adrenalina în mare parte legată de albumine.

Rolul biologic al catecolaminelor. Principalul efect fiziologic al catecolaminelor este cel asupra sistemului vascular sanguin. Adrenalina manifestă acțiune de contractare a vaselor sanguine periferice, ceea ce duce la o mărire a tensiunii arteriale și la o accelerare a bătăilor inimii. Noradrenalina manifestă acțiune vasodilatatoare, dar este vasoconstrictoare asupra rinichilor, splinei, ficatului și pielii. Efectele lor sînt însă de scurtă durată, deoarece sînt repede inactivați prin oxidare. Un însemnat rol revine catecolaminelor în stările emoționale și în situații speciale de efort fizic și psihic, cazuri în care organismele utilizează un mare exces din acești hormoni. Adrenalina predomină în stări de teamă, denumit hormonul apărării pasive, iar noradrenalina predomină în stări de furie, denumit hormon al apărării active. Ambii hormoni sînt efectori ai stării nervoase și au un rol însemnat în transmiterea fluxului nervos în sistemul nervos simpatic.

Rolul biochimic al catecolaminelor constă în implicațiile lor în metabolismul glucidelor, lipidelor și protidelor, precum și în circuitul hidromineral. În metabolismul glucidelor, catecolaminele duc la mobilizarea rezervei glicogenice și are loc o creștere a concentrației de glucoză în sînge. Această funcție biochimică a adrenalinei se explică prin acțiunea asupra fosforilazei, care duce la epuizarea glicogenului hepatic și apoi a celui muscular. Catecolaminele activează prin intermediul AMP-ciclic, ca urmare a influenței ei asupra măririi activității adenilatciclazei și a eliberării de AMP-ciclic.

În metabolismul lipidelor, catecolaminele intervin în lipoliză și în metabolismul lipidelor plasmatice. Efectul lipolitic al catecolaminelor necesită prezența glucocorticosteroizilor. Ei măresc sinteza adenilatciclazei.

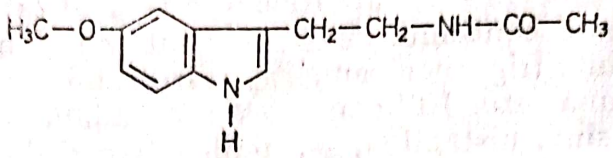
În circuitul hidromineral, adrenalina provoacă o creștere a concentrației ionilor de Mg^{2+} și a celor de Ca^{2+}.

7.10.3. HORMONUL EPIFIZAR

Epifiza produce substanțe neurosecretorii, printre care și hormonul epifizar, numit *melatonină*. Acest hormon se află atît în epifiză, cît și în nervii periferici.

Scanned with OKEN Scanner

Structura chimică a melatoninei este simplă, fiind un derivat al triptofanului, și anume 5-metoxi-N-acetil-triptamină.



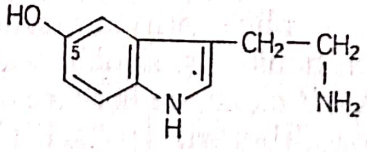
Melatonină

Rolul biologic principal constă în determinarea deschiderii la culoare a tegumentelor amfibiilor. Este principalul compus melanoforoconfortant, un antagonist al MSH. De asemenea, melatonina acționează și ca un mediator chimic în modularea bioritmurilor la animale, fiind un transductor secretor neurochimic prin care se realizează legătura între radiațiile luminoase, secreția nervoasă și funcționalitatea anumitor organe. Din aceste interacțiuni se realizează bioritmurile, care constau într-o serie de activități biochimice și fiziologice a căror evoluție decurge ritmic sau ciclic. Din aceste procese sînt: ciclul estral, secreția hormonilor, gastrică și intestinală, biosinteza proteinelor etc.

7.10.4. HORMONI PRODUȘI DE CELULELE NERVOASE ȘI DE ALTE CELULE

Serotonina este o importantă substanță neurotransmițătoare, care este secretată de toate celulele creierului, dar și de tiroidă, de celulele enterocromafine și se găsește în aceste țesuturi, precum și în sînge, ficat, splină, urină. Distribuția serotoninei este limitată, neuronii care conțin serotonină se află în nucleii sistemului nervos. Acești nuclei trec în creier și revin în conul dorsal. Neuronii ce conțin serotonină au fost găsiți în creierul de melc.

Structură. Este amina biogenă a triptofanului cu o grupare hidroxilică în poziția 5. Prin acetilarea grupării aminice și metoxilarea hidroxilului se ajunge la melatonină.



Serotonină

Rol biologic. Are acțiune constrictoare, fiind eliberată în cursul hemostaziei din trombocite în ser, iar mucoasa intestinală stimulează peristaltismul. Ea servește ca un fel de mesager chimic trimis de la un loc al neuronilor la o parte a creierului raportînd asupra naturii alimentației admise. Modificări în biosinteza sau catabolismul acestui neurohormon duc la tulburări ale sistemului nervos.

Serotonina are acțiune lipolitică. Acest efect este produs prin activitatea deosebită a fosforilazei în țesutul adipos, prin aceea că fosforilaza necesită o concentrație relativ scăzută de AMP-ciclic pentru activare.

Scanned with OKEN Scanner

7.11. CARACTERIZAREA CHIMICĂ ŞI BIOCHIMICĂ A HORMONILOR CU STRUCTURĂ STEROIDICĂ ŞI CU STRUCTURĂ DE ACIZI GRAŞI SPECIALI

7.11.1. HORMONI CU STRUCTURĂ STEROIDICĂ

Hormonii steroizi au la baza structurii lor scheletul steranic (v. „Steride"), pe care sînt grefate grupări funcţionale alcool, carbonil, în mod frecvent la C—3 şi C—17 şi mai rar la C—11. Uneori conţin o catenă laterală de doi atomi de carbon în poziţia 17 şi în unele cazuri duble legături în ciclul A sau B. Hormonii steroidici îndeplinesc funcţii fiziologice şi biochimice importante, şi anume ei imprimă caracterele sexuale secundare, influenţînd procesele de reproducţie, lactaţie etc. După îndeplinirea funcţiei, ei sînt catabolizaţi şi eliminaţi în urină, în general sub forme inactive, mai cu seamă ca esteri sulfurici sau legaţi de acidul glucuronic.

Din grupa hormonilor steroidici fac parte hormonii sexuali şi corticosuprarenali. Ei sînt produşi de testicul, ovar şi corticosuprarenale, dar o anumită glandă poate produce, pe lîngă hormonii preponderenţi, specifici şi hormoni caracteristici altor glande. Aşa de exemplu, hormonii *sexuali masculini* sînt produşi ai testiculului, dar pot fi secretaţi şi de către *suprarenale*, iar hormonii *sexuali feminini* apar în cantităţi mari şi în urina armăsarului sau chiar în regnul vegetal. Totodată, chiar hormonii specifici au pe lîngă acţiunile proprii şi alte acţiuni. Explicaţia acestor fapte este dată de înrudirea lor structurală. Precursorul biogenetic al tuturor hormonilor steroizi din organismul animal este colesterolul. Hormonii cu structură steroidică se grupează în două, şi anume: hormoni sexuali şi hormoni corticosuprarenali.

Biosinteza. Organismul animal poate sintetiza mulţi derivaţi steroidici, atît din colesterolul exogen, cît şi din cel endogen. Aceşti hormoni se pot forma după următoarea schemă:

$$CH_2—CO \sim SCoA \rightarrow \text{Colesterol} \rightarrow \text{Hormoni steroidici.}$$

Transformarea colesterolului în hormoni steroidici are loc în gonade. Procesul decurge printr-o oxidare a catenei laterale. Sistemul enzimatic necesar se află în mitocondrii.

În steroidogeneză este implicat AMP-ciclic, iar acumularea de AMPc este stimulată de ACTH. Creşterea concentraţiei de ACTH măreşte concentraţia de AMP_c, iar steroidogeneza este stimulată în mod proporţional. AMP-ciclic este implicat în steroidogeneză ca un mediator.

Stimularea steroidogenezei de către ACTH şi AMP-ciclic este remarcată în etapa de conversie a colesterolului la pregnenolonă. Concentraţii mari de AMPc sînt capabile să stimuleze convertirea progesteronei în corticosteronă şi în alte steroide. ACTH şi AMPc manifestă acţiune de inhibare în sinteza proteinelor în prezenţă de concentraţii mari de corticosteronă. AMP-ciclic stimulează formarea progesteronei.

Schema generală a steroidogenezei de la colesterol poate fi redată astfel:

Colesterol
↓
Progesteronă → Corticosteroizi → Glucocorticosteroizi
↓ ↓
Testosteronă → Estradiol Mineralocorticosteroizi

Scanned with OKEN Scanner

Vehicularea, catabolizarea și forme de eliminare. După biosinteză, hormonii sînt deversați în sînge și vehiculați. Formele de vehiculare sînt, în general, sub formă de complecși cu proteinele plasmatice. După îndeplinirea funcției, hormonul este catabolizat la forme inactive, numiți metaboliți și apoi eliminat în urină, mai cu seamă ca esteri sulfurici sau legați de acidul glucuronic.

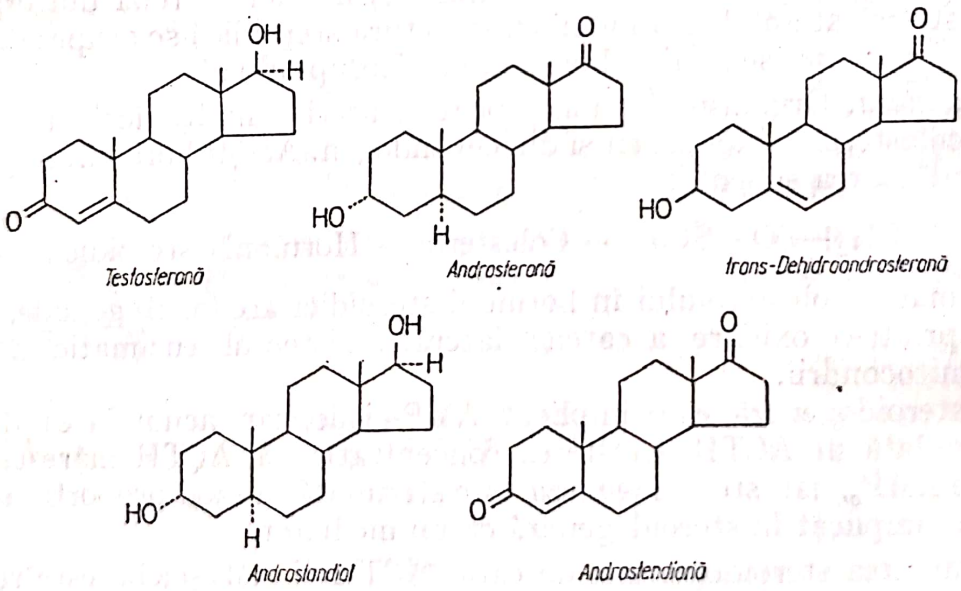
7.11.1.1. HORMONI SEXUALI

În funcție de activitatea hormonală și de gonada producătoare se grupează:

— hormoni sexuali masculini
— hormoni sexuali feminini

Hormonii sexuali masculini sau androgeni. Principala glandă care secretă androgeni este testiculul, dar pot fi produși și de corticosuprarenale și de ovare. Efectul masculinizant al androgenilor nu se produce la femele decît în cazuri speciale, deoarece ei sînt în antagonism cu hormonii feminini. Secreția lor se realizează sub influența adenohipofizarilor.

Structură chimică. Principalul androgen și specific masculilor este testosterona, care este secretată de celulele interstițiale ale testiculului. Pe lîngă testosteronă se găsesc în cantități mici: androsteronă, *trans*-dehidroandrosteronă, androstendiol și androstendionă, care reprezintă metaboliți și se găsesc în urină. Scheletul androgenilor este constituit din 19 atomi de carbon.



Testosteronă — Androsteronă — trans-Dehidroandrosteronă

Androstandiol — Androstendionă

Biosinteză. Biosinteza constă în transformarea colesterolului în androgeni, care parcurge două căi, una principală, care are loc în testicul și ovar și alta secundară, ce are loc în corticosuprarenale. Ambele căi au loc prin reacții de oxidare și reducere, cu pierderea completă a catenei laterale, a colesterolului, după cum se vede la structura testosteronei.

Rol biochimic. Acțiunea androgenilor este androgen-virilizantă și antiestrogenică. Testosterona este hormonul responsabil de apariția caracterelor sexuale primare și secundare, precum și a funcțiilor sexuale masculine, stimulînd, în mod indirect, maturizarea spermatozoizilor. Rolul biochimic major

Scanned with OKEN Scanner

al androgenilor este de anabolizant, în sensul că acești hormoni stimulează biosinteza proteinelor celulare la ambele sexe. Punctul de acțiune al testosteronei se situează după formarea aminoacilmonoadenilatului (AMP ~ AA), ca urmare a creșterii concentrației enzimelor care intervin în formarea legăturii peptidice. Acțiunea testosteronei în biosinteza proteinelor animale este desigur mult mai complexă. Acest hormon se fixează pe ADN, ceea ce favorizează o acțiune la nivel genetic, și în același timp se concentrează în țesuturi receptoare, ale căror celule conțin receptori hormonali. Acest receptor are o afinitate deosebit de mare pentru 5-α-dihidrotestosteronă, ceea ce sugerează ideea că forma activă a testosteronei la nivelul citoplasmei celulare este 5-α-dihidrotestosterona.

Datele recente asupra acțiunii androgenilor scot în evidență faptul că atît acțiunea asupra ADN, cît și cea anabolică a proteinelor constă în acțiunea lor la nivel genetic.

Efectul anabolic al androgenilor este de o deosebită importanță teoretică, îndeosebi într-o mare varietate de condiții care necesită o ameliorare a proceselor de nutriție, cum sînt: debilitate fizică generală, osteoporoză, rezistență mică la infecții etc.

Hormoni sexuali feminini. Gonadele femele produc două feluri de hormoni sexuali, cu efecte și structură diferită, și anume: *estrogeni* sau foliculari și *gestageni* sau progestageni. Atît hormonii estrogeni, cît și cei gestageni sînt necesari organismului femel pentru realizarea unui ciclu uterin complet. Acțiunea lor este permanentă, dar viața genitală activă a femelelor apare în perioada pubertății și se caracterizează prin manifestări ciclice. În prima fază a ciclului, foliculul produce hormoni estrogeni, care determină dezvoltarea și înmulțirea intensă a celulelor epiteliului uterin, iar în a doua fază se formează hormonii gestageni, care pregătesc muscoasa uterină pentru nidarea oului fecundat. În această a doua fază, foliculul se maturizează, expulzează oul și se transformă în corp galben (numit în acest fel din cauza conținutului său ridicat în carotinoide). Corpul galben produce hormoni gestageni, sub a căror influență mucoasa uterului continuă să se dezvolte și să devină aptă pentru adăpostirea oului fecundat. În cazul cînd nu se produce fecundarea, corpul galben degenerează după cîteva zile și biosinteza hormonilor gestageni încetează, iar mucoasa uterină, aflată în mare exces, este eliminată în scurgerea estrală. În acest fel mucoasa uterină revine la starea inițială, după care începe un nou ciclu.

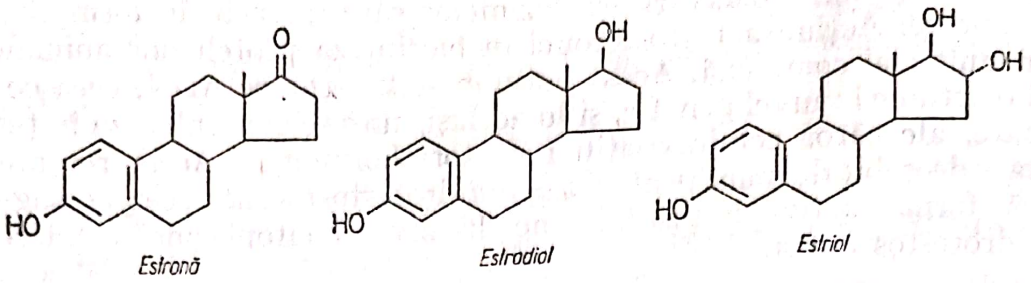
În cazul cînd are loc fecundarea oului, corpul galben nu dispare, ci își continuă secreția gestagenilor, împiedicînd o nouă ovulație. Condițiile create în acest fel în uter sînt prielnice dezvoltării embrionului, ceea ce constituie perioada de gestație.

Hormoni estrogeni. Acest tip de hormoni poartă și denumirile: foliculari, C_{18}-steroizi și fenolsteroizi. Eliberarea estrogenilor este reglată de către hormonii gonadotropi LH și FSH. În perioada gestației, hormonii estrogeni sînt secretați în mod continuu, atingînd concentrațiile cele mai ridicate cu circa două săptămîni înainte de fătare.

Structură chimică. Hormonii estrogeni se caracterizează prin prezența unui ciclu aromatic (ciclul A), lipsa metilului de la C—10 și prezența unui HO fenolic la C—3.

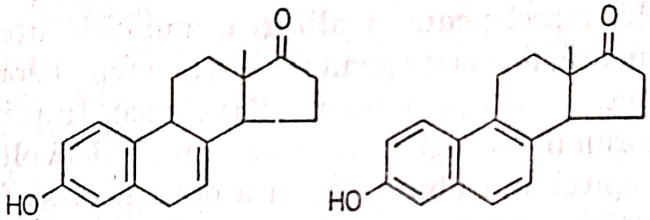
Scanned with OKEN Scanner

Principalul hormon estrogenic este estrona, dar în mod obișnuit ovarul secretă estradiol, iar estrona (numită incorect foliculină) și estriolul sînt produși ce rezultă prin catabolizarea estradiolului. Prezintă caracter fenolic.



Estronă *Estradiol* *Estriol*

Din urina de iapă s-au izolat, pe lîngă estronă și equilină și equilenină, care prezintă o activitate hormonală mai slabă decît cea a estronei. Estrona se află în cantitate relativ mare în urina animalelor gestante, în cea mai mare parte esterificată cu acid sulfuric. Estradiolul se află în foliculii ovarieni, de obicei cuplat cu acid glucuronic sau sulfuric. Acidul estron-sulfuric are o activitate hormonală redusă în comparație cu estrona, iar acidul estron-glucuronic este complet inactiv. Organismul animal se folosește de reacția de esterificare ca un mijloc de apărare împotriva cantităților mari de hormoni produși, îndeosebi în perioada gestației. O iapă poate sintetiza aproximativ 30 g estronă în perioada de gestație.



Equilină *Equilenină*

Hormonii estrogeni au fost identificați nu numai în lichide biologice și în țesuturile femele (ovar, placentă, sînge și urină), ci și în glandele sexuale și în urina masculilor. Estrogenii au fost izolați și din produse vegetale: estrona din semințe de palmier, iar estriolul din florile de salcie și din multe alte plante.

Biosinteză. Formarea estrogenilor decurge astfel: testosteronă → estradiol. Forma de vehiculare este de complex β-lipoproteinic, care se află în ficat. Inactivarea estrogenilor se realizează enzimatic, la nivelul ficatului, prin cuplarea lor sub formă de acid estrogen-sulfuric sau acid estrogen-glucuronic.

Rol biochimic. Acești hormoni determină formarea caracterelor sexuale secundare și influențează funcția ovariană, uterul, trompele și oviductul. În evoluția normală a ciclului genital este implicată estrona, în timp ce estriolul intervine în stimularea biosintezei proteinelor. În general, în evoluția ciclului estral, hormonii estrogeni influențează maturizarea foliculilor, ovocitogeneza și însăși mucoasa uterină. Asupra aparatului circulator, hormonii estrogeni produc o vasodilatație generală, cu predominanță asupra organelor genitale.

Hormonii estrogeni favorizează retenția apei și a clorurii de sodiu. De asemenea, ei măresc retenția ionilor de Ca^{2+} și eliminarea celor de K^+.

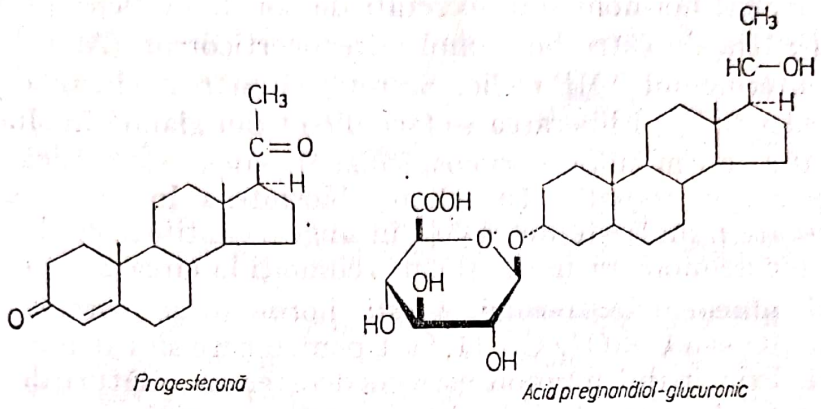
Pe lîngă acțiunea estrogenică specifică acești hormoni au un rol în metabolismul lipidelor și proteinelor. În prezența estrogenilor are loc o creștere a biosintezei trigliceridelor și a fosfolipidelor. De asemenea, stimulează formarea ARN și a proteinelor.

Hormoni gestageni. Sînt cunoscuți sub diferite denumiri și anume: hormoni progesteronici, progestageni (progestine), luteali, de sarcină, ai corpu-

Scanned with OKEN Scanner

lui galben sau C_{21}-steroidici. Hormonul specific este progesterona și predomină în faza a doua a ciclului sexual, în cea de gestație. Sînt secretați de corpul galben sub acțiunea hormonului gonadotrop LH.

Structură chimică. Progesterona poate fi inactivată prin hidrogenare la pregnandiolglucuronat.



Biosinteză. Formarea progesteronei în gonade se realizează din colesterol, printr-un proces de oxidare, după schema următoare:

Colesterol→pregnenonă→pregnenolonă→progesteronă

Rol biochimic. Acțiunea hormonală constă asupra ovarelor și mai ales asupra uterului. Acești hormoni reglează activitatea ovarelor și pregătesc mucoasa uterină pentru nidație și determină trecerea activității uterine din faza proliferativă în cea secretorie. Favorizarea nidației de către progesterone constă în menținerea troficității oului fecundat înainte și după nidație. În această situație sînt necesare cantități relativ mari de hormoni gestageni în comparație cu necesarul în alți hormoni sexuali.

Hormonii gestageni au rolul de a inhiba contractibilitatea uterului provocată de estrogeni și de ocitocină. Acest efect este deosebit de important pentru menținerea oului, favorizînd mersul normal al gestației. Hormonii gestageni influențează asupra dezvoltării glandei mamare și contribuie la secreția de lupte postpartum.

7.11.1.2. HORMONI CORTICOSUPRARENALI

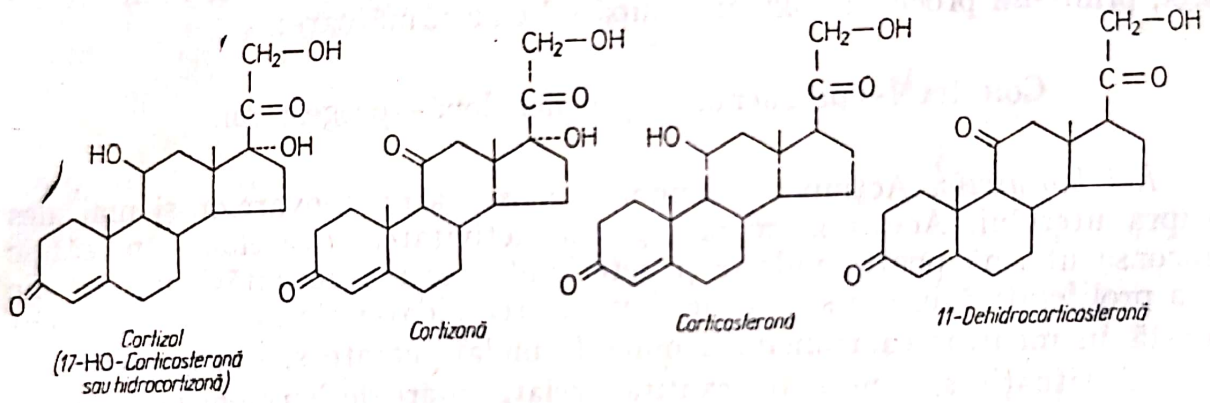
Corticosuprarenala secretă hormoni cu structură steroidică, alături de cei sexuali, de importanță vitală pentru organism. Prin extirparea suprarenalelor (cîine, șobolan etc.) are loc o slăbire a animalelor, care poate produce moartea după cîteva zile. Totodată este modificat echilibrul hidromineral sanguin, prin creșterea ionilor de Ca^{2+} și de K^+, și a acidului lactic, iar concentrația în glicogen este micșorată, ceea ce duce la apariția hiperglicemiei. Aceste fapte demonstrează că hormonii corticosuprarenali participă la metabolismul glucidelor, al protidelor și la circuitul hidromineral.

Scanned with OKEN Scanner

Glandele suprarenale posedă două regiuni distincte: cortexul sau scoarța și medulosuprarenala (v. Hormoni medulosuprarenali). Cortexul, la rîndul său, are trei zone diferite și anume: fasciculata, glomerulata și reticulata, fiecare producînd cîte o grupă de hormoni cu acțiuni majore specifice și anume: glucocorticosteroizi, mineralocorticosteroizi și hormoni corticosuprarenali de tip sexual.

Secreție. Acești hormoni sînt secretați de zonele corticosuprarenalei prin stimularea acesteia de către hormonul adrenocorticotrop (ACTH), care acționează prin intermediul AMP-ciclic. Secreția se mărește în mod deosebit în cazul solicitărilor fizice. Eliberarea se face direct din glandă în sînge. În general, concentrația hormonilor corticosteroizi în sînge este mică, de asemenea și în corticosuprarenală. În schimb biosinteza lor este considerabilă, astfel că în fiecare minut este deversată în sînge o cantitate ce depășește mult concentrația lor de moment în ser și sînt reînnoiți la circa 2—3 ore.

Hormoni glucocorticosteroizi. Acești hormoni se caracterizează prin prezența unui HO sau C=O la C—11, fapt pentru care sînt denumiți și 11-oxicorticosteroizi. Principalul hormon este corticosterona, alături de care se află totdeauna și cortizol, cortizonă și 11-dehidrocorticosteronă.



Hormonul preponderent secretat de corticosuprarenale este corticosterona, care se află, în sînge, în mare parte legată de o proteină specifică de tip α-globulinic, numită transcortină.

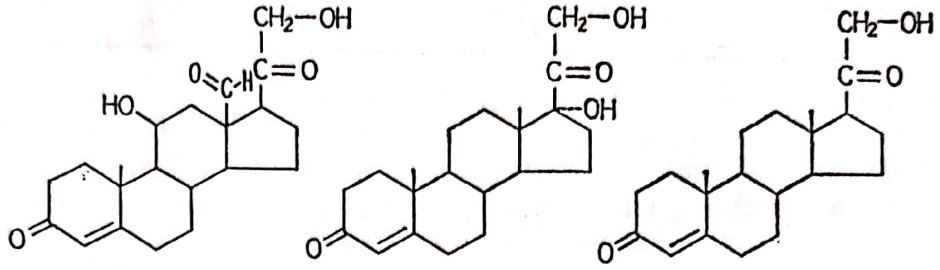
Inactivarea acestor hormoni se realizează prin hidrogenarea C=O și C=C, transformîndu-se în urocortizol sau tetrahidrocortizol, urocortizonă sau tetrahidrocortizonă etc. Acești urocorticosteroizi se cuplează cu acidul glucuronic și apoi se elimină în urină. În cea mai mare parte necesarul de hormoni glucocorticosteroizi la animale este asigurat de cortizol, iar între acesta și cortizonă există o permanentă transformare a unuia în celălalt.

Rol biochimic. Rolul biochimic principal constă în reglarea metabolismului glucidelor, pe de o parte prin scăderea vitezei de oxidare a glucozei, iar pe de altă parte prin stimularea gluconeogenezei și favorizarea catabolismului protidelor. În metabolismul lipidelor glucocorticosteroizii favorizează biosinteza de acizi grași cu apariția hiperglicemiei și colesterolemiei. Manifestă și acțiuni antiinflamatorii.

Hormoni mineralocorticosteroizi. Hormonii mineralocorticosteroizi sau mineralotropi sînt înrudiți structural cu cei glucocorticosteroizi, avînd un schelet constituit din 21 atomi de carbon și deosebindu-se prin aceea că

Scanned with OKEN Scanner

nu conțin oxigen la C—11. Mai importanți sînt aldosterona, 11-deoxicortizolul și 11-deoxicorticosterona.



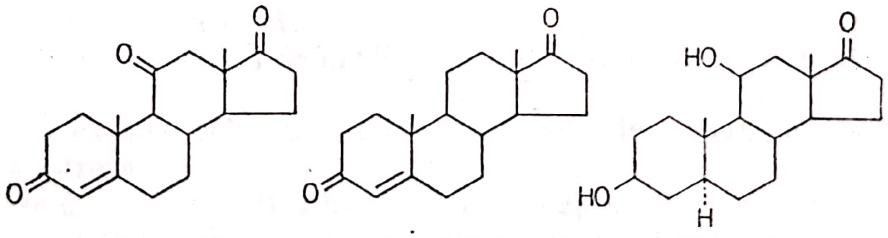
Aldosteronă — 11-Deoxicortizol (DOC) — 11-Deoxicorticosteronă

Vehicularea acestor hormoni se realizează sub formă de complecși proteici. Inactivarea se face prin hidrogenarea la nivelul grupării cetonice și a dublei legături C=C.

Rol biochimic. Hormonii mineralocorticosteroizi acționează în reglarea circuitului hidromineral. În lipsa acestor hormoni, rinichii nu pot reține ionii de Na^+ și cantitățile echivalente de anioni Cl^- și HCO_3^-. În aceste condiții scade concentrația ionilor de sodiu din sînge, iar presiunea osmotică sanguină este redusă. În lipsa mineralocorticosteroizilor se elimină cantități mari de apă, de ioni K^+ și PO_4^{3-}, fapt ce determină o permeabilitate celulară. Modificarea raportului Na^+/K^+ se realizează mai ales în salivă, în sudoare și în secreția gastrică.

Hormonii mineralocorticosteroizi stimulează absorbția lipidelor și a glucozei prin intestin.

Hormoni corticosuprarenali de tip sexual. Hormonii din această grupă sînt lipsiți de activitate corticosuprarenală, dar manifestă acțiune androgenă, estrogenă și luteială, efectul major fiind cel androgen. Ei sînt secretați îndeosebi de zona reticulată, astfel că pe lîngă cei descriși la hormonii sexuali, aici apar și unii specifici, cum sînt: adrenosteronă, androstendionă și hidroxiandrosteronă. Acești hormoni au scheletul format din 19 atomi de carbon.



Androsteronă — Androstendionă — Hidroxi-androsteronă

La masculi hipersecreția de acești hormoni duce la o masculinizare accentuată, iar la femele la virilizare.

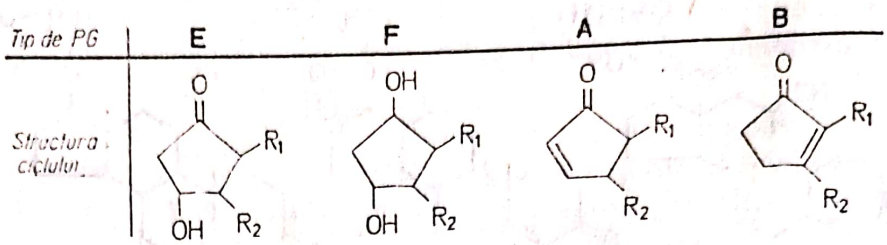
7.11.2. HORMONI CU STRUCTURĂ DE ACIZI GRAȘI SPECIALI

O grupă particulară de acizi grași nesaturați polienici cu 20 atomi de carbon și cu ciclul pentanic în moleculă, care prezintă proprietăți hormonale sînt prostaglandinele. Acești hormoni sînt considerați compuși cu acțiune locală, ce au rol de reglatori intracelulari ai activității hormonale.

Prostaglandine. Secreția prostaglandinelor este realizată de foarte multe organe și țesuturi (stomac, ovare, suprarenale, rinichi, țesut adipos, nervi, tiroidă, creier, plămîni, măduva spinării, timus) și lichide biologice (lichidul seminal și menstrual).

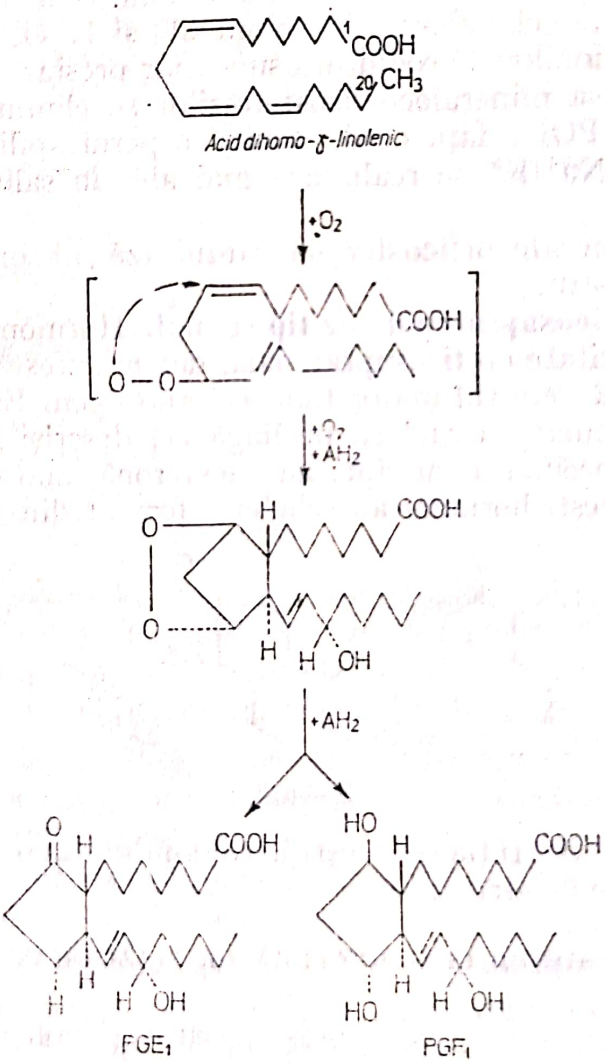
Scanned with OKEN Scanner

Structură chimică. Se cunosc aproximativ 14 prostaglandine (PG) care se pot grupa în patru tipuri și anume E, F, A și B.



Fiecărui tip îi corespund 3 sau 4 derivați. Mulți derivați sînt sintetici.

Biosinteză. Precursorii PG sînt acizii grași nesaturați cu catena C_{20}, de aceea biosinteza lor este limitată la concentrația acestor acizi în țesuturi. Acidul dihomo-γ-linolenic este precursorul PGE_1, dar și a PGF_1. Formarea acestor PG se realizează printr-o reacție de ciclizare și apoi oxidare cu oxigen molecular:



Inactivarea PG se realizează prin hidrogenarea dublelor legături și oxidarea catenelor R_1 și R_2. Aceste transformări au loc în diferite organe, dar mai ales în plămîni, ficat, rinichi și țesutul conjunctiv.

Rol biochimic. Acest tip de hormoni au un spectru foarte larg și diferit de acțiune, putînd influența organele genitale, mușchii gastrointestinali, sistemul cardiovascular și nervos, metabolismul, rol stimulator al sistemului nervos etc.

Scanned with OKEN Scanner

— Asupra organelor genitale acționează facilitînd fecundația și contracția musculaturii netede a uterului.

— Diferite PG acționează prin inhibarea secreției mușchilor netezi ai tractului gastrointestinal.

— Asupra sistemului cardiovascular, prostaglandinele au acțiune vasodilatatoare, îndeosebi PGA și PGA_1.

— Rolul prostaglandinelor în metabolism, îndeosebi în metabolismul glucidelor, constă atît în eliberarea acizilor grași neesterificați în țesutul adipos, cît și în lipoliză, prin împiedicarea formării adenilatciclazei.

$$ATP \xrightarrow{PGE} \text{AMP-ciclic} \begin{cases} \xrightarrow{\text{Lipază activă}} \\ \xrightarrow{\text{Lipază inactivă}} \end{cases} \xrightarrow{TG} \text{Glicerol} + AC$$

TG — trigliceride

AC = acizi grași

7.12. TESTE DE VERIFICARE

1. Alcătuiți un tabel cu glandele endocrine și hormonii secretați, după următorul tabel:

Glanda secretoare	Denumirea hormonului secretat	Natura hormonului	Asupra căror organe acționează

2. Să se dea cîteva exemple din care să reiasă rolul de glandă suprarenală a hipofizei. Care este structura chimică a hormonilor hipofizotropi? Ce structură chimică are TRT?

3. Să se dea un model de mediere a AMPc și să se explice rolul îndeplinit de acesta.

4. Să se explice rolul biochimic îndeplinit de somatotropine și de hormonii gonadotropi.

5. Să se explice rolul biochimic al vasopresinei și ocitocinei.

6. Să se explice calea biosintetică a insulinei și a mecanismului de acțiune a acestui hormon.

7. Să se explice rolul biochimic îndeplinit de: calcitonină, paratirin, tiroxină și serotonină.

8. Să se explice rolul biologic al hormonilor sexuali și rolul anabolic al acestora.

9. Corticosuprarenala secretă mai mulți hormoni. Precizați care sînt și ce rol îndeplinesc.

10. Să se descrie efectele biochimice la injectarea de:
— insulină
— glucagon
— adrenalină
la un organism animal normal.

11. Să se precizeze direcțiile de acțiune ale prostaglandinelor.

23 — c. 217 40

Scanned with OKEN Scanner

8

TOPOCHIMIA CELULEI

8.1. CONSIDERAȚII GENERALE

În ierarhia organizării moleculare a celulei, diferite complexe supramoleculare se asamblează constituind *formațiuni infracelulare* (subcelulare) sau *organite celulare*. Acestea prezintă structuri cu funcții caracteristice și determină, printr-un sistem de membrane, compartimentarea spațiului intracelular.

Celula constituie unitatea de bază structurală și funcțională a materiei vii. Eterogenitatea infrastructurii celulare este corelată cu o repartizare (localizare) specifică a componentelor biochimice pe diferitele organite. Topochimia celulei implică astfel o anumită organizare biochimică condiționată de compartimentarea spațiului intracelular și respectiv de existența unor infrastructuri diverse caracterizate printr-o compoziție chimică, printr-o repartizare a enzimelor, printr-un flux al metaboliților și prin procese biochimice specifice.

Microeterogenitatea structurală a celulei, interacțiunile biochimice care se manifestă între diferitele componente ale infrastructurii celulare și ambianța metabolitică creată de transformările constituenților biochimici asigură coordonarea și fluxul proceselor metabolice care conferă celulei atributul esențial de *modul* al vieții.

Fiecare celulă reprezintă o entitate cu un grad înalt de organizare internă, care se comportă ca un angrenaj unitar a cărei funcționalitate perfect coordonată și autoreglată este rezultanta activității integrate a setului de componente individuale structurale și biochimice.

Caracterul esențial pe care se bazează diferențierea celulelor îl reprezintă natura mediului intracelular sau nivelul de organizare infracelular. Din acest punct de vedere, celulele se clasifică în două tipuri principale: *procariote* și *eucariote*.

Celulele eucariote reprezintă un stadiu avansat în evoluția celulei vii, în grupul acestor celule încadrîndu-se celulele de origine animală, cele ale plantelor, ale multor alge și fungi.

Celulele eucariote, spre deosebire de cele procariote, se caracterizează prin: grad înalt de organizare structurală internă, existența unor particule

Scanned with OKEN Scanner

subcelulare distincte denumite organite celulare, existența unui sistem de membrane interne care delimitează organitele și compartimentează spațiul intracelular, aparat genetic localizat în nucleu delimitat de restul celulei, procese respiratorii localizate în mitocondrii.

Organitele caracteristice celulelor eucariote pot fi formațiuni de natură complet membranară (reticulul endoplasmatic, aparatul Golgi) sau formațiuni înconjurate de o membrană delimitantă (nucleu, mitocondrii, lizozomi, cloroplastele celulelor vegetale).

8.2. COMPONENTE STRUCTURALE ALE CELULELOR EUCARIOTE. CARACTERIZARE ULTRASTRUCTURALĂ ȘI BIOCHIMICĂ

Celulele eucariote se caracterizează printr-o structură generală comună, care include următoarele componente infracelulare: membrane, nucleu, mitocondrii, lizozomi, reticul endoplasmatic în asociere cu ribozomii, aparatul Golgi, peroxizomi. Aceste componente, ca și o serie de incluziuni citoplasmatice, sînt integrate în citoplasmă.

8.2.1. CITOPLASMA

Reprezintă mediul celular fluid nestructurat și solubil, cu aspect mai mult sau mai puțin omogen și cu o granulație fină. Constituită dintr-o mare varietate de substanțe — macromolecule, molecule și ioni — dizolvate sau în stare coloidală, citoplasma asigură traficul în cadrul celulei și spre exteriorul acesteia a produșilor de sinteză și de degradare biochimică; ea asigură, totodată, fluxul reacțiilor metabolice și stabilește legături și interacțiuni biochimice între diferitele compartimente și formațiuni infracelulare.

În citoplasmă sînt localizate enzimele care participă la degradarea glucidelor (glicoliza anaerobă) și la sinteza acizilor grași (complexul sintetază), fosfokinaze, precum și alte enzime implicate în metabolismul diferitelor substraturi; conține, printre altele, aminoacizi liberi și unele specii de ARN care participă la biosinteza proteinelor.

Organizarea ultrastructurală de ansamblu a celulei eucariote este redată în figura 8.1.

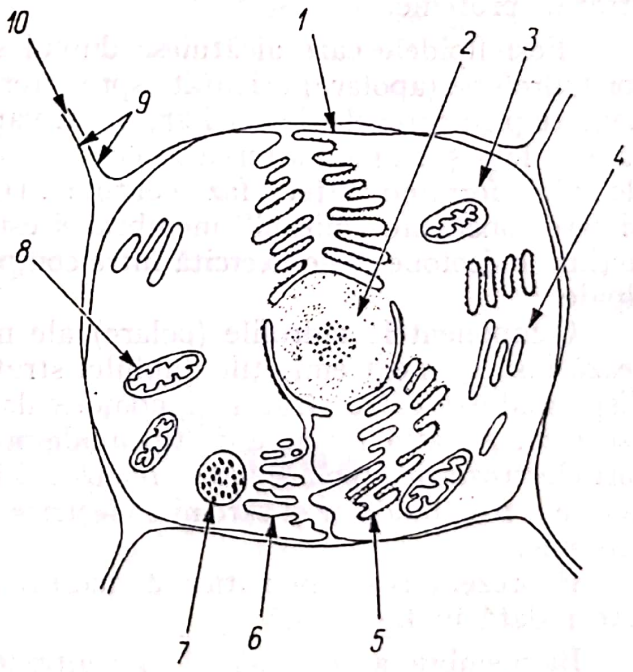


Fig. 8.1. Schema organizării ultrastructurale a celulei eucariote:

1 — membrană celulară; *2* — nucleu; *3* — citoplasmă; *4* — reticul endoplasmatic neted; *5* — reticul endoplasmatic rugos pe care sînt localizați ribozomi; *6* — aparat Golgi; *7* — lizozomi; *8* — mitocondrie; *9* — membrane ale celulelor învecinate; *10* — spațiu intercelular.

8.2.2. BIOMEMBRANE. PROCESE DE TRANSPORT PRIN BIOMEMBRANE

Membranele celulare denumite genetic *biomembrane* repre-

zintă formațiuni moleculare semipermeabile de natură lipoproteică, nerigide și continue care delimitează mediul intern de cel extern al celulei. Pe lîngă acest tip de membrană externă denumită membrană plasmatică ce formează conturul celulei, există și un sistem de membrane intracelulare care delimitează diferite organite, compartimentează spațiul intracelular și participă la organizarea mediului intern al celulei. Funcția esențială a membranelor este legată de fenomenul de *permeabilitate*, prin care participă la reglarea proceselor de transport a moleculelor și ionilor în interiorul celulei și spre exteriorul acesteia.

8.2.2.1. ORGANIZAREA STRUCTURALĂ A BIOMEMBRANELOR

Componentele chimice ale structurii biomembranelor sînt lipidele (~ 40%) și proteinele (~ 60 %).

Componenta lipidică este constituită predominant din lipide polare (glicerofosfolipide, sfingomieline); spre deosebire de alte membrane, cele plasmatice sînt bogate și în colesterol. Raportul dintre diferitele lipide polare constituente este caracteristic pentru fiecare membrană și tip de celulă, precum și pentru fiecare specie. Funcția de *permeabilitate* a membranelor, care reflectă procesele de transport sau translocare a diferiților ioni sau substanțe, este dependentă de raportul componentelor lipidice constitutive.

Proteinele care intră în structura biomembranelor pot fi reprezentate de mai multe specii moleculare; ele posedă o masă moleculară de $4—6 \cdot 10^4$ și sînt insolubile în sistemele apoase ale mediului celular la *p*H în jur de 7,0.

Referitor la structura biomembranelor, au fost postulate mai multe modele moleculare. În conformitate cu cel mai acceptat model, structura biomembranelor este constituită dintr-un *dublu strat de lipide polare* (aproape în exclusivitate fosfolipide), mărginit de o parte și de alta de cîte un monostrat de proteine.

Fosfolipidele care alcătuiesc dublul strat lipidic prezintă componentele lor hidrofobe (apolare) orientate spre interior. Componentele hidrofobe (reprezentate prin catenele de acizi grași) care aparțin unui strat de lipide se dispun față în față și în mod alternativ cu componentele hidrofobe ale celuilalt strat de lipide, formînd astfel o fază continuă. Dublul strat de lipide astfel organizat și care constituie „miezul" membranei este stabilizat și menținut prin interacțiuni hidrofobe ce se exercită între componentele apolare ale moleculelor de lipide.

Componentele hidrofile (polare) ale moleculelor de fosfolipide se orientează însă spre extremitățile dublului strat, în direcție opusă celor hidrofobe, dispunîndu-se către stratul monomolecular marginal de proteine cu care se asociază. Această asociere de tip lipide-proteine este stabilizată prin legături electrostatice (polare) ce se realizează între sarcinile electrice ale regiunii polare a fosfolipidelor și sarcinile electrice ale unor radicali de aminoacizi din proteine.

Reprezentarea schematică a acestui model molecular de biomembrană este redată în figura 8.2.

Biomembrana apare astfel ca o ultrastructură a cărei organizare și stabilitate se realizează prin două tipuri de interacțiuni: *interacțiuni hidrofobe* (lipide-lipide) și *interacțiuni electrostatice* (lipide-proteine).

Mai recent, au fost propuse și alte modele de structură pentru biomembrane, care reprezintă însă variante ale modelului considerat clasic. Astfel, s-a acreditat ipoteza că în interiorul dublului strat de lipide se află dispuse

Scanned with OKEN Scanner

molecule de proteină care se extind la anumite intervale de-alungul acestui dublu strat; lanțurile polipeptidice, care constituie moleculele proteice sînt astfel cuprinse în interstițiile lanțurilor hidrofobe ale lipidelor. În acest model structural denumit „în mozaic" (fig. 8. 3), complexele lipoproteice formate

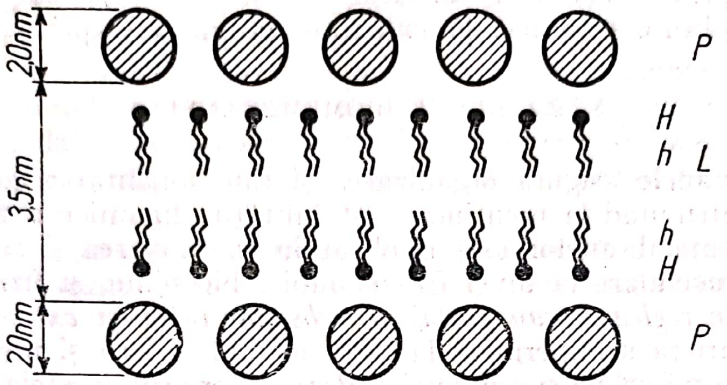


Fig. 8.2. Model molecular de biomembrană:
P — proteine; *L* — lipide; *H* — componente hidrofile; *h* — componente hidrofobe.

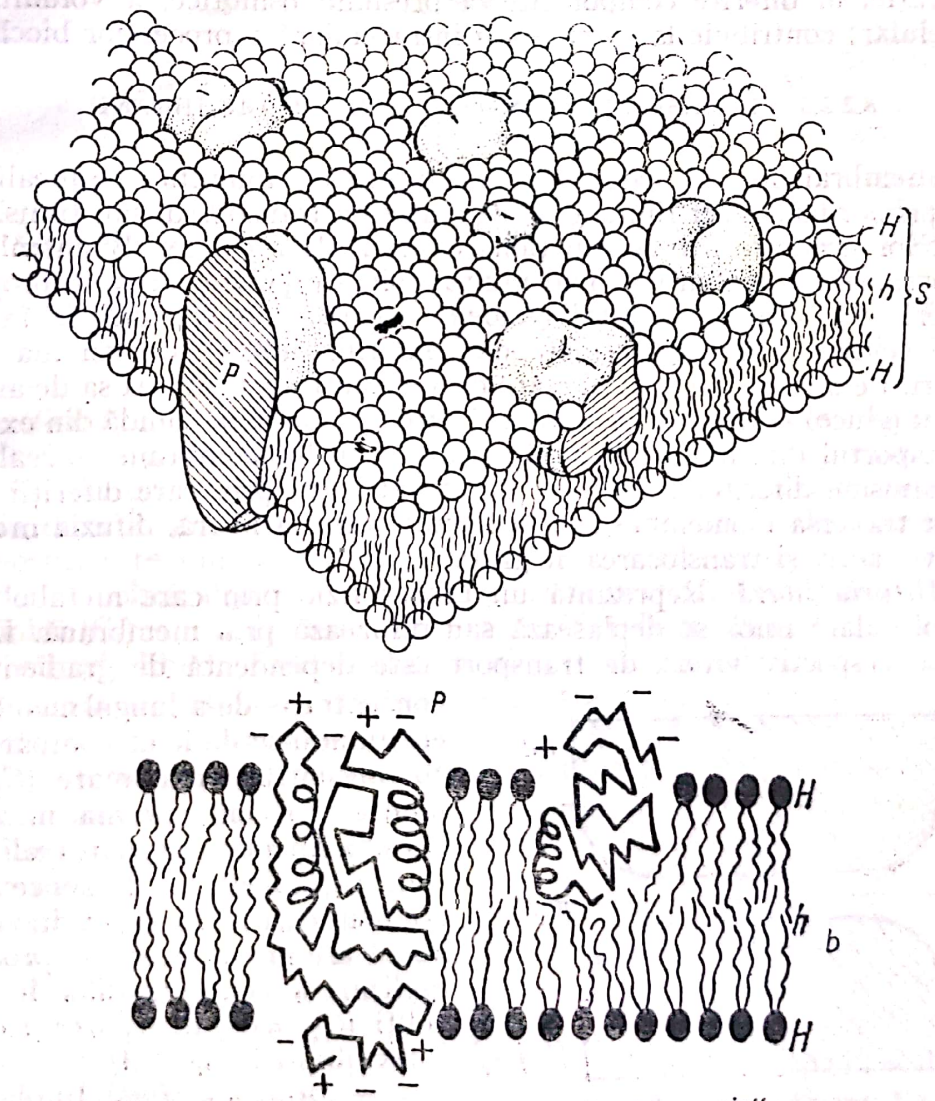


Fig. 8.3. Modelul de biomembrană „în mozaic":
P — proteine globulare; *S* — strat bimolecular de lipide; *H* — componente hidrofile polare; *h* — componente hidrofobe, acizi grași.

dețin un rol funcțional, participînd la procesele de transport sau la unele activități enzimatice la nivelul biomembranei. Un astfel de model implică o anumită fluiditate a biomembranei care se află într-o stare de echilibru termodinamic; orice perturbare fizică sau chimică produsă poate antrena o redistribuire prin translație a diferiților constituenți, asociată cu realizarea unui nou echilibru determinat de noile interacțiuni care apar.

8.2.2.2. ROLUL BIOMEMBRANELOR

Biomembranele asigură organizarea și funcționalitatea mediului intern al celulei, contribuind la menținerea stabilității dinamice a acesteia. Rolul esențial al biomembranelor este implicat în coordonarea și realizarea interacțiunilor intracelulare la nivel fizico-chimic, biochimic și fiziologic. Astfel: biomembranele *reglează transportul de substanțe intra- și extracelular*, funcționînd ca o barieră semipermeabilă între mediul extern și mediul intern al celulei; *delimitează* celula și *compartimentează* interiorul acesteia, delimitînd — totodată — diferite formațiuni intracelulare; asigură *homeostazia metabolică* a celulei și menținerea — în limite compatibile cu activitatea celulară — a concentrației în diferite componente, a presiunii osmotice, a volumului de lichid celular; contribuie la *coordonarea* intracelulară a proceselor biochimice.

8.2.2.3. PROCESE DE TRANSPORT PRIN BIOMEMBRANE

Biomembranele se caracterizează printr-o anumită permeabilitate, funcția primordială a lor fiind aceea de a asigura transportul sau translocarea substanțelor necesare pentru funcționarea normală a celulei. Biomembranele sînt impermeabile pentru cele mai multe molecule polare; această proprietate conferă un anumit avantaj biologic, deoarece previne difuzia în afara mediului celular a diferiților metaboliți interni, dintre care cei mai mulți sînt polari. Pe de altă parte, celula are nevoie pentru activitatea sa de anumiți metaboliți (glucoză, aminoacizi, ioni etc.) care trebuie să pătrundă din exterior.

Transportul diferitelor substanțe și ioni prin biomembrane se realizează prin mecanisme diferite. Există cel puțin patru căi prin care diferiții metaboliți pot traversa biomembranele, și anume: difuzia liberă, difuzia mediată, transportul activ și translocarea de grup.

— *Difuzia liberă*. Reprezintă un proces fizic prin care metaboliții cu masă moleculară mică se deplasează sau difuzează prin membrană. Difuzia lor liberă, respectiv viteza de transport este dependentă de gradientul de concentrație de-a lungul membranei, efectuîndu-se de la un compartiment cu concentrație mai mare (C_2) spre unul cu concentrație mai mică (C_1). Difuzia liberă nu se poate realiza deci contra gradientului de concentrație, gradient care se anulează cînd difuzia liberă are loc deoarece se produce o egalizare a concentrațiilor în metaboliți ($C_2 = C_1$) de o parte și de alta a membranei (fig. 8.4).

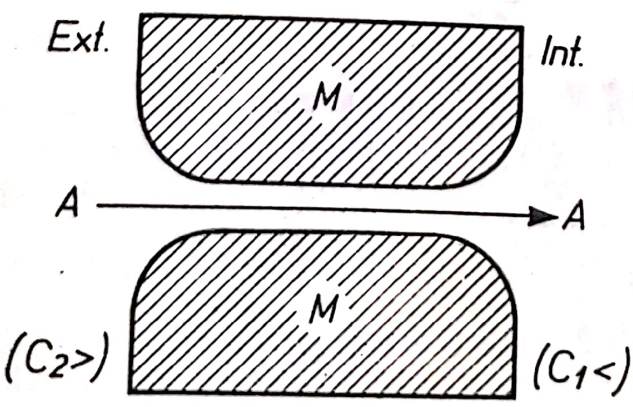


Fig. 8.4. Schema difuziei libere: — membrană ; *A* — metabolit care difuzează printr-un „por" umplut cu apă al membranei.

— *Difuzia mediată*. Implică prezența și acțiunea în biomembrană a unor sisteme transportoare de natură

Scanned with OKEN Scanner

proteică denumite și *permeaze*. Translocarea unor substanțe se realizează în orice direcție, dar niciodată contra gradientului de concentrație, deci în sensul descreșterii concentrației într-unul din compartimentele delimitate; transportul este astfel pasiv și nu necesită cheltuială de energie. Transportorii sau permeazele manifestă specificitate pentru substanța transportată și au rolul de a facilita procesul de transport în sensul accelerării vitezei de difuzie prin biomembrană. Viteza de penetrație a unui metabolit dobîndește însă o valoare limită, pe măsura creșterii concentrației pe una din fețele membranei. Totodată, spre deosebire de difuzia liberă, difuzia mediată este stereospecifică (de exemplu, D- și L-aminoacizii traversează membrana cu viteze diferite).

Mecanismul procesului de difuzie mediată (fig. 8.5) presupune următoarele etape: *recunoașterea* de către molecula transportoare (T) din membrană

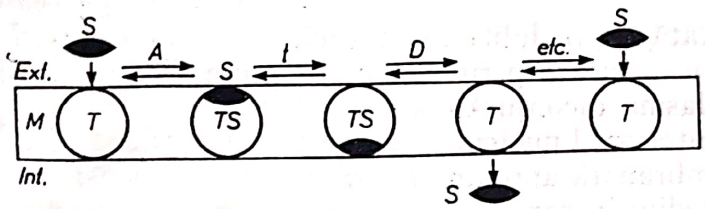


Fig. 8.5. Mecanismul procesului de difuzie mediată:
M — membrană; T — moleculă transportoare; A — asociere; t — translocare; D — disociere.

a substanței (S) care urmează a fi transportată și asocierea acesteia într-un complex specific pe aria externă a membranei (TS); *translocarea* (prin difuzie, rotație, oscilație sau altă mișcare) complexului (TS) prin biomembrană către aria internă a acesteia; *disocierea* complexului (TS) cu eliberarea substanței transportate (S), precum și a moleculei transportoare (T) care poate relua procesul.

— *Transportul activ*. Acest proces este, în linii generale, similar procesului de difuzie mediată, de care se deosebește însă prin faptul că transportul metabolitului prin biomembrană se face *contra gradientului de concentrație*, adică în direcția unei concentrații crescute pe una din fețele biomembranei. Transportul este unidirecțional sau vectorial și se realizează cu *consum de energie* metabolică, deoarece metabolitul se deplasează de la o arie de concentrație mică (C_1) la una de concentrație mare (C_2). În transportul activ, sistemul cîștigă energie liberă, fiind cuplat cu alte reacții metabolice care furnizează energie, ceea ce explică translocarea contra gradientului de concentrație. Sistemele de transport activ permit celulei de a extrage *selectiv* din mediu anumite substanțe, chiar cînd concentrația acestora este foarte mică.

În procesul de transport activ intervin astfel, pe lîngă componentele care funcționează ca transportori de natură proteică sau lipoproteică și componente care *cuplează* acțiunea acestor transportori la o sursă de energie (ATP), unidirecționînd astfel transportul de substanțe prin biomembrane.

Mecanismul transportului activ este reprezentat în figura 8.6.

În conformitate cu acest mecanism substratul (S) traversează membrana sub forma unui complex labil cu molecula transportoare ($S \sim T$) care este energizată ($T \rightarrow \sim T$) sub acțiunea sursei de energie ($\sim P$). Complexul $S \sim T$ transportat către compartimentul interior se disociază rapid, cu eliberarea lui S de cealaltă parte a membranei și a transportorului T în interiorul membranei; prin energizarea acestuia, procesul de transport activ poate fi reluat.

Scanned with OKEN Scanner

— *Translocarea de grup.* Reprezintă un transport activ, deoarece necesită energie metabolică. După acest mecanism, fiecare glucid — de exemplu — este transportat prin biomembrană și eliberat în interiorul celulei sub forma unui derivat fosforilat, ce nu se poate deplasa prin membrană în sens invers. Sistemul transportor este constituit dintr-o proteină transportoare, o enzimă care transferă gruparea fosfat pe molecula de glucid (fosfat transferază) și o sursă de energie (ATP).

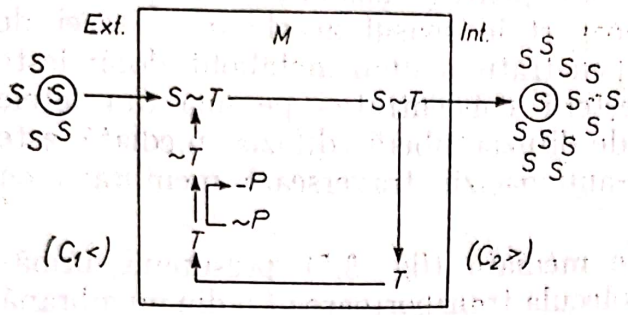


Fig. 8.6. Mecanismul transportului activ.

8.2.3. NUCLEUL

Nucleul constituie cea mai mare și mai densă particulă infracelulară (4—6 μ) delimitată de o dublă membrană cu numeroși pori nucleari. Porii dublei membrane nucleare permit trecerea produșilor de biosinteză nucleară (ARN) în citoplasma înconjurătoare.

În spațiul interior al nucleului denumit nucleoplasmă este inclus *nucleolul*, particulă nemembranară aproximativ sferică, foarte densă și bogată în ARN. Nucleolul este sediul în care se sintetizează diferitele tipuri de ARN pe baza informației codificate în secvența ADN; acest proces poartă denumirea de transcripție și reclamă participarea enzimei ARN polimeraza — ADN dependentă.

În nucleoplasmă, dar mai ales lîngă membrana nucleară, există regiuni mai puțin dense decît nucleolul; substanța acestor regiuni constituie *cromatina* în care este localizată cea mai mare proporție de ADN celular (95 %). În stadiul dintre diviziunile celulare, cromatina are o distribuție neordonată în nucleu; în stadiul diviziunii celulare și respectiv în procesul mitotic, cromatina capătă o organizare precisă, formînd unitățile ereditare denumite *cromozomi*. În procesul diviziunii celulare, cromozomii sufăr o replicare, generîndu-se astfel două seturi identice de cromozomi concomitent cu replicarea ADN-ului. Enzima necesară pentru replicarea ADN-ului cromozomial este o ADN polimerază — ADN dependentă.

În concluzie, nucleul este o componentă infracelulară cu un grad înalt de specializare funcțională și reprezintă sediul în care informația genetică este: *păstrată* ca ADN, *transmisă* celulei prin procesul secvențial ADN→ARN→proteine și *replicată* pentru asigurarea perpetuării celulei prin procesul ADN→ →ADN.

8.2.4. MITOCONDRII

Mitocondriile sînt particule infracelulare a căror mărime, formă și număr variază de la celulă la celulă (fig. 8.7 și 8.8). În general, prezintă o formă alungită cu un diametru de 0,5 — 1,0 μ și au o mărime de 1/20 din cea a nucleului, egală cu mărimea unei celule procariote; mitocondriile dețin aproximativ 20 % din volumul citoplasmatic. Celulele caracterizate printr-un metabolism aerob pronunțat prezintă o populație mare de mitocondrii.

Mitocondriile sînt constituite dintr-un sistem de dublă membrană care delimitează o structură intramitocondrială; cele două membrane — una externă și una internă — sînt separate printr-un spațiu intramembranar (fig. 8.9). Membrana externă este netedă și continuă pe tot conturul mito-

Scanned with OKEN Scanner

— *Translocarea de grup.* Reprezintă un transport activ, deoarece necesită energie metabolică. După acest mecanism, fiecare glucid — de exemplu — este transportat prin biomembrană și eliberat în interiorul celulei sub forma unui derivat fosforilat, ce nu se poate deplasa prin membrană în sens invers. Sistemul transportor este constituit dintr-o proteină transportoare, o enzimă care transferă gruparea fosfat pe molecula de glucid (fosfat transferază) și o sursă de energie (ATP).

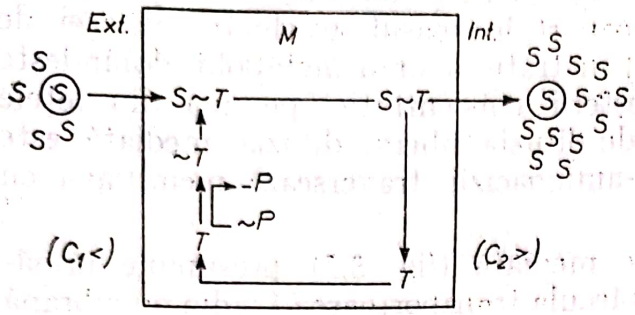


Fig. 8.6. Mecanismul transportului activ.

8.2.3. NUCLEUL

Nucleul constituie cea mai mare și mai densă particulă infracelulară (4—6 μ) delimitată de o dublă membrană cu numeroși pori nucleari. Porii dublei membrane nucleare permit trecerea produșilor de biosinteză nucleară (ARN) în citoplasma înconjurătoare.

În spațiul interior al nucleului denumit nucleoplasmă este inclus *nucleolul*, particulă nemembranară aproximativ sferică, foarte densă și bogată în ARN. Nucleolul este sediul în care se sintetizează diferitele tipuri de ARN pe baza informației codificate în secvența ADN; acest proces poartă denumirea de transcripție și reclamă participarea enzimei ARN polimeraza — ADN dependentă.

În nucleoplasmă, dar mai ales lîngă membrana nucleară, există regiuni mai puțin dense decît nucleolul; substanța acestor regiuni constituie *cromatina* în care este localizată cea mai mare proporție de ADN celular (95 %). În stadiul dintre diviziunile celulare, cromatina are o distribuție neordonată în nucleu; în stadiul diviziunii celulare și respectiv în procesul mitotic, cromatina capătă o organizare precisă, formînd unitățile ereditare denumite *cromozomi*. În procesul diviziunii celulare, cromozomii sufăr o replicare, generîndu-se astfel două seturi identice de cromozomi concomitent cu replicarea ADN-ului. Enzima necesară pentru replicarea ADN-ului cromozomial este o ADN polimerază — ADN dependentă.

În concluzie, nucleul este o componentă infracelulară cu un grad înalt de specializare funcțională și reprezintă sediul în care informația genetică este: *păstrată* ca ADN, *transmisă* celulei prin procesul secvențial ADN→ARN→proteine și *replicată* pentru asigurarea perpetuării celulei prin procesul ADN→ →ADN.

8.2.4. MITOCONDRII

Mitocondriile sînt particule infracelulare a căror mărime, formă și număr variază de la celulă la celulă (fig. 8.7 și 8.8). În general, prezintă o formă alungită cu un diametru de 0,5 — 1,0 μ și au o mărime de 1/20 din cea a nucleului, egală cu mărimea unei celule procariote; mitocondriile dețin aproximativ 20 % din volumul citoplasmatic. Celulele caracterizate printr-un metabolism aerob pronunțat prezintă o populație mare de mitocondrii.

Mitocondriile sînt constituite dintr-un sistem de dublă membrană care delimitează o structură intramitocondrială; cele două membrane — una externă și una internă — sînt separate printr-un spațiu intramembranar (fig. 8.9). Membrana externă este netedă și continuă pe tot conturul mito-

condriei. Membrana internă prezintă invaginări, formînd numeroase pliuri neregulate spre interiorul mitocondriei denumite *criste mitocondriale*. Cristele sînt înconjurate de o regiune cu aspect granular omogen care reprezintă fluidul intern al mitocondriei denumit matrice mitocondrială.

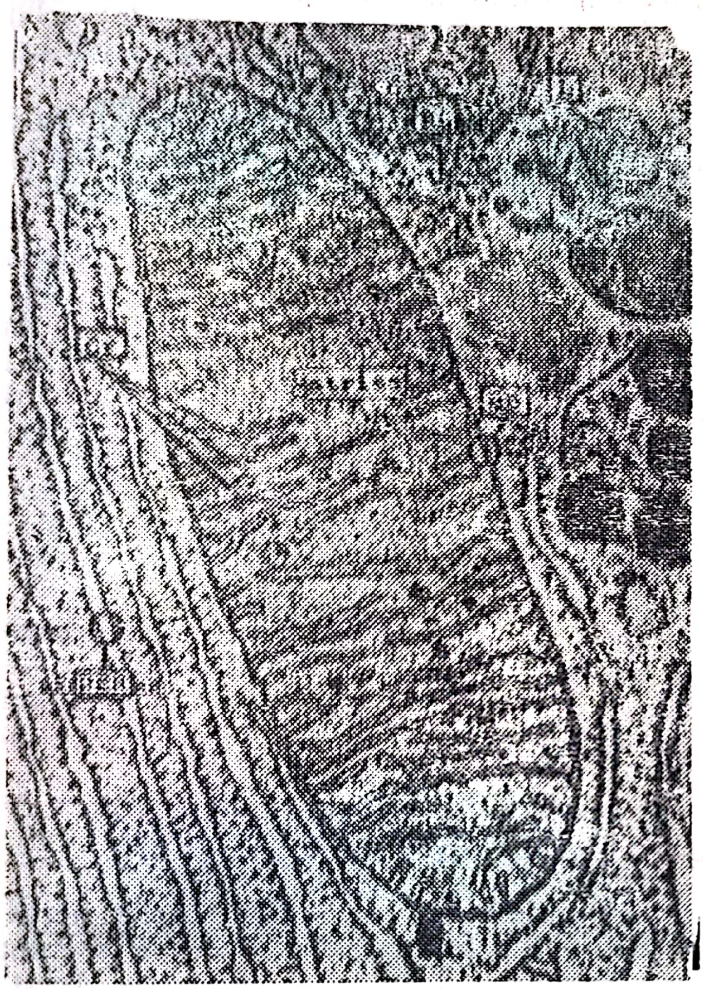


Fig. 8.7. Imaginea unei mitocondrii și a citoplasmei înconjurătoare obținută la microscopul electronic:
MD — membrană mitocondrială dublă; *Cr* — criste mitocondriale; *RER* — reticul endoplasmatic cu ribozomi atașați; *RL* — ribozomi liberi; *L* — lizozomi (după D. W. Fawecett).

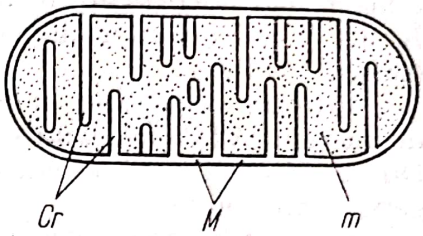


Fig. 8.8. Reprezentarea schematică a mitocondriei:
M — membrană dublă; *Cr* — criste mitocondriale; *m* — matrice mitocondrială.

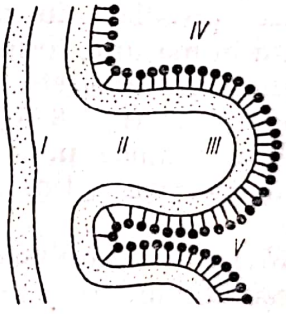


Fig. 8.9. Reprezentarea schematică a membranei mitocondriale:
I — membrană externă; *II* — spațiu intermembranar; *III* — membrană internă; *IV* — matrice; *V* — particule ale membranei interne.

Membrana internă a mitocondriei posedă o permeabilitate limitată; membrana externă este însă complet permeabilă pentru o varietate mare de compuși cu mase moleculare de peste $1 \cdot 10^4$, acest caracter fiindu-i conferit de conținutul său mai ridicat în lipide.

Cele două membrane diferă prin conținutul lor în proteine: din totalul de proteine al unei mitocondrii, 4% este asociat cu membrana externă, 21% cu membrana internă, iar diferența de 75% este localizată în matricea mitocondrială.

Date recente au evidențiat prezența ADN în mitocondrii unde reprezintă 2—4% din totalul ADN-ului celular. ADN-ul mitocondrial, localizat în matrice sau legat de membrană, nu este asociat cu histone și are aspectul unei molecule circulare dublu spiralate asemănătoare cu ADN din bacterii. Evidențierea în matricea mitocondrială a ADN-polimerazei, enzimă care catalizează biosinteza ADN, sugerează ipoteza că ADN-ul mitocondrial este biosintetizat

Scanned with OKEN Scanner

independent în mitocondrie. De asemenea, în matricea mitocondrială a fost evidențiată prezența ribozomilor 70S, a *t*ARN, a *m*ARN, precum și a unor enzime care catalizează biosinteza unui număr limitat de tipuri de proteine.

Sub raport biochimic, mitocondriile dețin un rol determinant în economia metabolică a celulei. Mitocondriile sînt sediul metabolismului celular aerob (oxigen dependent) care include cele trei procese biochimice cardinale: ciclul Krebs (ciclul acidului citric), oxidarea acizilor grași, fosforilarea oxidativă (sinteza ATP).

Prin aceste procese, în mitocondrii se generează practic întreaga cantitate de energie (ATP) necesară creșterii, funcționării și viabilității întregii celule. Din acest motiv, mitocondriile sînt considerate ca adevărate „centrale energetice" ale celulei.

Realizarea proceselor biochimice specifice mitocondriilor este posibilă datorită existenței unui mozaic complex de enzime localizate în diferite compartimente ale structurii mitocondriale. Astfel, enzimele care intervin în ciclul Krebs și în β — oxidarea acizilor grași sînt localizate în membrana externă și în matricea mitocondriilor, iar enzimele și alți factori care participă în procesul de fosforilare oxidativă (generare de ATP) sînt localizate în membrana internă, respectiv în criste.

8.2.5. RETICULUL ENDOPLASMATIC

Reprezintă o rețea de canalicule și vezicule legate de membrana plasmatică. Localizat în citoplasma celulei, reticulul endoplasmatic prezintă variații în mărime, formă și suprafață; el se extinde de la membrana celulară (plasmatică), învelește nucleul, înconjoară mitocondriile și brăzdează spațiul citoplasmatic (fig. 8.10).

Prin tehnica microscopiei electronice, s-au evidențiat două tipuri de reticul endoplasmatic: reticul endoplasmatic rugos și reticul endoplasmatic neted.

Reticulul endoplasmatic rugos (ergastoplasma) nu are un aspect neted, ci prezintă numeroase asperități datorate unor particule mici și dense care sînt atașate la suprafața exterioară a membranei ce delimitează veziculele. Aceste particule sau granule poartă denumirea de *ribozomi*.

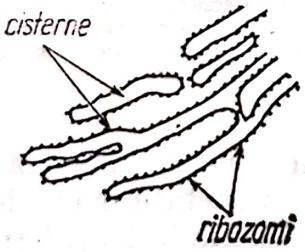


Fig. 8.10. Reprezentarea schematică a reticulului endoplasmatic.

Reticulul endoplasmatic neted prezintă un aspect regulat și se caracterizează prin absența ribozomilor.

Ribozomii citoplasmatici constituie particule libere sau asociate reticulului endoplasmatic avînd o formă aproximativ rotundă cu diametrul de 0,010 — 0,015 μ. Ribozomii sînt complexe nucleoproteice, constituiți din aproximativ 60% acizi ribonucleici ribozomali (*r*ARN) și 40% proteine; ei reprezintă *sediul de biosinteză a proteinelor*. În toate celulele eucariote ribozomii citoplasmatici intacți au o constantă de sedimentare de aproximativ 80 *S* și constau din două subunități: 40*S* și 60*S*.

În cursul procesului de biosinteză a proteinelor, ribozomii se atașează la cîte o moleculă de *m*ARN; complexul molecular format din *m*ARN și ribozomi poartă denumirea de *polizom*. Metaforic, polizomii pot fi asemuiți cu un șirag de mărgele dispuse pe un fir. Spre deosebire de ribozomii citoplasmatici, ribozomii mitocondriali se aseamănă foarte mult cu ribozomii celulelor procariote; ribozomii mitocondriali au o constantă de sedimentare de 70*S* și disociază reversibil în două subunități: 30*S* și 50*S*.

Scanned with OKEN Scanner

Microzomii reprezintă o fracțiune subcelulară constituită din fragmente și mici vezicule rezultate prin disrupția reticulului endoplasmatic. Prin omogenizarea celulelor și centrifugarea fracționată a omogenatului obținut la 100 000 x g timp de 30 minute, se obține un sediment care reprezintă fracțiunea microzomală sau microzomii. Microzomii au un diametru de 0,06 — — 0,15 μ și conțin ribozomi atașați. Un set important de enzime care participă la diverse reacții biochimice se găsește localizat în microzomi.

Funcțiile specializate ale reticulului endoplasmatic sînt corelate cu participarea sa în procesul de biosinteză a proteinelor și în transportul proteinelor prin celulă. Biosinteza proteinelor se realizează la nivelul suprafeței ribozomilor aderenți la reticulul endoplasmatic și necesită cooperarea celor trei tipuri de ARN. Programul de biosinteză a unei anumite proteine este transcris de pe ADN pe *m*ARN; prin intermediul *m*ARN acest program este transferat la nivelul ribozomilor unde, în prezența *r*ARN este tradus într-o anumită secvență de aminoacizi aduși din citoplasmă la ribozomi de către *t*ARN.

Proteinele sintetizate la nivelul ribozomilor asociați reticulului endoplasmatic pot urma două căi: a) trec în compartimentul intern al reticulului endoplasmatic și ulterior sînt transportate către suprafața celulei; b) trec de la reticulul endoplasmatic rugos la reticulul endoplasmatic neted și apoi la rețeaua de vezicule denumită aparatul Golgi; acest aparat segregă și concentrează mai multe molecule de proteine de un anumit tip în granule dense care, ulterior, sînt secretate din celulă în lichidul extracelular sau utilizate la formarea lizozomilor.

Pe lîngă funcțiile biochimice menționate, reticulul endoplasmatic conține și un echipament enzimatic divers care participă la sinteza sterolilor, triglicеridelor și fosfolipidelor, la desaturarea și elongația acizilor grași, la hidroliza glucozo-6-fosfatului, la detoxifiere prin metilare, hidroxilare etc. a unor substanțe medicamentoase. De asemenea, la nivelul microzomilor se află localizați *citocromul* b_5 — care funcționează ca un sistem transportor de electroni limitat la desaturarea acizilor grași — și *citocromul P-450* —care participă la reacțiile de hidroxilare în celulele animale.

8.2.6. APARATUL GOLGI

Aparatul Golgi constituie o rețea de tubuli sau vezicule care, spre deosebire de reticulul endoplasmatic, este limitat la regiuni restrînse din citoplasmă. Veziculele apar frecvent grupate în „ciorchine" mici și sînt de obicei localizate lîngă nucleu sau lîngă apex-ul celulelor secretoare; suprafața membranei aparatului Golgi este de tip neted.

Funcțiile atribuite aparatului Golgi sînt următoarele: acceptarea proteinelor biosintetizate și transferate de la nivelul reticulului endoplasmatic rugos prin reticulul endoplasmatic neted, concentrarea acestor proteine și „împachetarea" lor în granule dense ce sînt ulterior secretate în lichidul extracelular; colectarea și asamblarea proteinelor necesare pentru biosinteza membranei lizozomilor și, probabil, chiar a membranei celulare; constituie sediul pentru biosinteza heteropoliglucidelor care sînt ulterior secretate de celulă și depozitate în învelișul de mucopoliglucide al celulei. La nivelul aparatului Golgi a fost observată o intensă biosinteză de fosfolipide.

Scanned with OKEN Scanner

8.2.7. LIZOZOMI

Prezenți în toate celulele animale în număr și tipuri diferite, lizozomii sînt organite de formă neregulată, delimitate de o membrană netedă care le individualizează în spațiul citoplasmatic. Lizozomii sînt particule ceva mai mici decît mitocondriile și includ o matrice care conține diverse tipuri de *enzime hidrolitice* (hidrolaze) ce acționează la un *p*H optim acid.

Grupele de enzime hidrolitice caracteristice lizozomilor sînt: ribonucleaze, deoxiribonucleaze, fosfataze, glicozidaze, catepsine, sulfataze.

Enzimele lizozomale acționează asupra diferiților biopolimeri celulari. Astfel, proteazele (catepsine) manifestă o mare capacitate pentru hidroliza proteinelor, nucleazele pentru hidroliza ARN și ADN, glicozidazele pentru hidroliza poliglucidelor; fosfatazele acide intervin în hidroliza diferitelor tipuri de esteri fosforici etc. Toate enzimele lizozomale, cu excepția dehidrogenazei NADH-dependentă și a esterazelor, sînt prezente în matricea lizozomilor ca proteine solubile. Aceste enzime sînt separate, stocate și apoi utilizate în degradarea intracelulară a substratelor respective prezente în interiorul celulei.

Biogeneza lizozomilor și modul lor de acțiune în procesul de apărare al celulei contra unor corpi sau produși străini sînt prezentate în figura 8.11.

Lizozomul primar se formează la periferia aparatului Golgi; acest lizozom include enzimele specifice care au fost sintetizate la nivelul ribozomilor de pe reticulul endoplasmatic rugos, colectate în aparatul Golgi și apoi transferate lizozomului primar. Diferite macromolecule (proteine, acizi nucleici, poliglucide) se deplasează în celulă prin endocitoză, proces care implică o invaginare a membranei și o ingerare a lor prin membrană cu formarea unui *fagozom*. Într-o fază ulterioară, lizozomul primar fuzionează cu fagozomul pentru a forma un al doilea tip de lizozom care acționează ca o *vacuolă digestivă*;

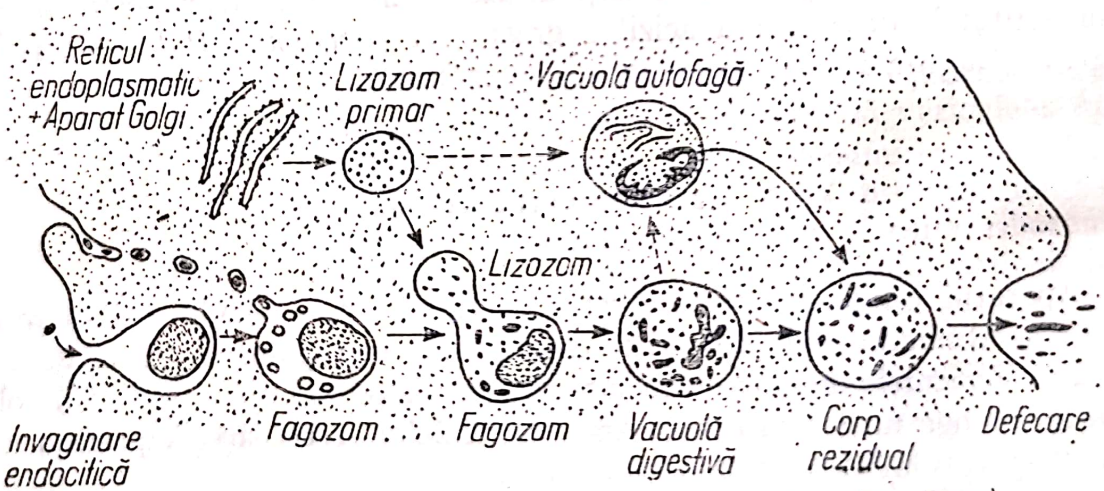


Fig. 8.11. Biogeneza lizozomilor și modul lor de acțiune (De Duve).

în această vacuolă cu un *p*H acid, macromoleculele sînt scindate de către enzimele hidrolitice. Produșii de reacție astfel rezultați difuzează din vacuolă în citoplasmă, putînd fi încorporați în diferite componente celulare. Fragmentele nehidrolizate, „nedigerate" rămase în vacuolă sînt apoi expulzate (defecare) în fluidul înconjurător prin intermediul unui al treilea tip de lizozom denumit *corp rezidual*.

Lizozomii exercită funcții importante în cadrul celulei. Astfel, ei participă la autoliza celulei moarte, la digerarea enzimatică a unor particule (bacterii)

Scanned with OKEN Scanner

prin *fagocitoză* sau a unor picături lichide (proteine, poliglucide etc.) prin *pinocitoză*; acrozomul localizat în capul spermatozoidului constituie un lizozom specializat care, prin enzimele conținute, digeră învelișul ovulului facilitînd pătrunderea spermatozoidului și fecundarea ovulului. Anumite boli ereditare însoțite de o acumulare anormală de lipide complexe sau de poliglucide în celule sînt consecința absenței unor hidrolaze din lizozomii celulelor indivizilor afectați de aceste maladii.

8.2.8. PEROXIZOMI

Sînt particule din citoplasmă cu rol oxidativ, conținînd oxidaze producătoare de H_2O_2 și catalază care descompune H_2O_2. Peroxizomii au un diametru de aproximativ 0,5 nm, sînt spațial separați de alte regiuni ale celulei în care se desfășoară diferite reacții metabolice, nu posedă un sistem biochimic respirator și nici un sistem de conservare a energiei. Peroxizomii caracteristici celulei hepatice conțin urat oxidază, *D*-aminoacid oxidază, *L*-aminoacid oxidază.

8.3. TESTE DE VERIFICARE

1. Componentele structurale ale celulei se caracterizează prin compoziție și funcții biochimice specifice. În acest sens, să se completeze rubricile următorului tabel:

Denumirea organitelor celulare	Funcția biochimică	Tipurile de enzime localizate

2. Sediul biosintezei proteinelor îl reprezintă:
— citoplasma? — mitocondriile?
— nucleul? — ribozomii?
— microzomii? — reticulul endoplasmatic?
Să se indice soluția corectă și să se argumenteze opțiunea făcută.

3. Mitocondriile și lizozomii sînt organite celulare cu funcții caracteristice. Să se indice natura proceselor biochimice la care participă aceste organite, în funcție de tipurile de enzime pe care le conțin.

4. Între reticulul endoplasmatic rugos și aparatul Golgi $\frac{\text{există}}{\text{nu există}}$ o corelație funcțională? Să se indice răspunsul corespunzător și să se argumenteze soluția aleasă.

5. Să se precizeze componentele structurale ale celulei care sînt implicate în biosinteza proteinelor și să se indice biomoleculele localizate în aceste componente care participă la biosinteza proteinelor.

Scanned with OKEN Scanner

9

BIOENERGETICĂ

9.1. CONSIDERAȚII GENERALE

Organismul viu este sediul unor complexe transformări interne, chimice și fizice, însoțite de conversie de energie. Dinamismul materiei vii este rezultanta unității și interacțiunilor dialectice ale proceselor biochimice simultane de degradare și de sinteză. Ansamblul acestor procese care constituie metabolismul intermediar este însoțit de transformări energetice: energia generată în reacțiile biochimice de degradare a unor biomolecule este utilizată pentru biosinteza altor biomolecule sau transformată în diferite forme utile de energie necesară proceselor vitale.

Transformările bioenergetice, care exprimă interrelațiile metabolice între cuplurile de reacții generatoare de energie și cele consumatoare de energie, sînt strict corelate cu procesele metabolice și se realizează prin intermediul anumitor substanțe chimice bogate în energie și denumite generic compuși „macroergici". Acești compuși sînt dotați cu proprietatea specifică de a stoca energie chimică potențială rezultată din procesele de degradare și de a furniza energia pentru procesele de biosinteză sau pentru alte procese consumatoare de energie.

Bioenergetica studiază legile după care decurg procesele de transformare a energiei în organismele vii. Energetica sistemelor vii se supune legilor termodinamicii, legi care stau la baza transformărilor de energie ce se petrec într-un sistem chimic, fizic sau biologic. Transformările energetice se exprimă, în general, prin conceptul termodinamic de variație a energiei libere a sistemului dat.

Prin specificul lor, transformările de energie în organismele vii pot fi încadrate în următoarele trei aspecte:

a) Transformarea energiei luminoase în energie chimică, proces realizat prin fotosinteză de către plantele verzi.

b) Transformarea la organismele heterotrofe a energiei chimice potențiale din moleculele organice de origine alimentară în energie chimică în special sub formă de ATP; această energie este direct utilizabilă de către organism.

c) Transformarea energiei chimice stocată în moleculele de ATP sau alți compuși macroergici în alte forme de energie (calorică, mecanică, electrică, osmotică etc.) necesară desfășurării proceselor vitale.

Scanned with OKEN Scanner

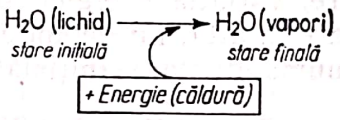
Sistemele biologice sînt *sisteme deschise* caracterizate prin schimb permanent de materie și energie cu mediul ambiant. Ca orice sistem din univers, organismele vii sînt sisteme care se supun celor două principii fundamentale ale termodinamicii.

9.2. PRINCIPIILE TERMODINAMICII

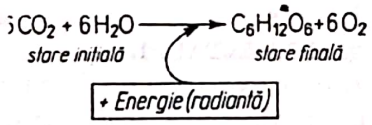
9.2.1. ENERGETICA TRANZIȚIILOR DE STARE

Orice transformare fizică sau chimică este, în general, definită prin proprietățile fizice și/sau chimice ale stării inițiale și stării finale ale sistemului dat (presiune, temperatură, stare fizică, concentrație, compoziție chimică). Starea inițială și starea finală în procesul de transformare pe care-l suferă un sistem implică anumite niveluri energetice și respectiv schimburi energetice.

De exemplu, transformarea fizică:



și transformarea chimică (fotosinteză):



sînt procese care necesită aport de energie și, în consecință, stările inițiale posedă un nivel energetic mai scăzut decît stările finale. Rezultă, totodată, că în ambele transformări, energia furnizată fiecărui sistem este convertită într-o altă formă de energie: în vaporizarea apei, energia calorică este transformată în energie cinetică crescută a moleculelor, iar în procesul fotosintetic de fixare a CO_2 energia radiantă este transformată în energie chimică necesară formării legăturilor covalente din glucidele fotosintetizate.

Toate transformările de energie sînt guvernate de cele două principii fundamentale ale termodinamicii.

9.2.2. PRIMUL PRINCIPIU AL TERMODINAMICII

Acest principiu stabilește că energia totală a unui sistem este constantă, deși în cursul unei transformări în starea sistemului energia se poate schimba de la o formă la alta. Primul principiu exprimă deci axioma *conservării energiei* conform căreia energia nu poate fi nici creiată nici distrusă, cu toate că diferitele forme de energie sînt interconvertibile.

Formularea cantitativă a primului principiu al termodinamicii se exprimă prin relația:

$$\boxed{E = E_f - E_i = Q - W} \qquad (1)$$

în care:

E este schimbarea în energia internă (E) a sistemului între starea inițială (E_i) și starea finală (E_f)
Q — căldura absorbită de sistem din exterior
W — travaliul efectuat de către sistem în exterior.

Scanned with OKEN Scanner

Primul principiu reflectă relațiile energetice cărora li supune orice transformare a sistemului de la o stare la alta. Prin trecerea de la starea inițială la starea finală, sistemul poate absorbi energie din exterior sau ceda energie în exterior. Conform primului principiu, diferența conținutului de energie al sistemului între starea finală și cea inițială trebuie să fie compensată printr-o diferență a conținutului de energie din exterior.

9.2.2.1. ENERGIE INTERNĂ

Diferența $Q - W$ din relația (1) reprezintă variația de energie internă a sistemului (ΔE). *Energia internă* a unui sistem este un parametru termodinamic care exprimă energia totală a unui sistem specific într-o stare specifică; energia internă este o funcție de stare, fiind dependentă numai de sistem și de starea în care se află sistemul.

Fiind o funcție de stare, variația energiei interne (ΔE) a unui sistem, cînd acesta trece de la o stare la alta, nu depinde de transformările pe care le suferă (căile parcurse), ci numai de starea inițială și cea finală a sistemului:

$$E_f - E_i = \Delta E = Q - W$$

9.2.2.2. ENTALPIA

În condițiile în care mărimea W din relația (1) corespunde la un lucru mecanic (volum — presiune, realizat de sistem prin trecerea de la volumul V_1 la V_2) efectuat la presiune (P) constantă, cantitatea ($E + PV$) reprezintă *conținutul de căldură a sistemului sau entalpia H*. Entalpia se definește deci prin relația:

$$\boxed{H = E + PV}$$

și constituie suma energiei interne (E) a sistemului și a lucrului mecanic (PV). Entalpia este o funcție de stare a sistemului și, pentru o transformare dată, variația sa (ΔH) este egală cu căldura de reacție la presiune constantă. Variația entalpiei apare dependentă de variația energiei interne (ΔE) prin relația:

$$\Delta H = \Delta E + P \cdot \Delta V$$

În reacțiile chimice care decurg în condiții de presiune și volum constante fără producere de travaliu, variația entalpiei este egală cu variația energiei interne a sistemului:

$$\Delta H = \Delta E$$

În funcție de efectul lor caloric, reacțiile chimice pot fi exoterme și endoterme. *Reacțiile exoterme* sînt însoțite de degajare de căldură și au o valoare negativă a entalpiei ($\Delta H < 0$). *Reacțiile endoterme* sînt însoțite de o absorbție de căldură și au o valoare pozitivă a entalpiei ($\Delta H > 0$).

De exemplu oxidarea glucozei este o reacție exotermă:

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6\,CO_2 + 6\,H_2O \qquad \Delta H = -673 \text{ Kcal.}$$

Scanned with OKEN Scanner

9.2.3. AL DOILEA PRINCIPIU AL TERMODINAMICII

Acest principiu stabileşte că toate sistemele tind spontan către o stare de echilibru care este funcţie de condiţiile impuse. În conformitate cu acest enunţ, toate sistemele tind spontan către o schimbare care descreşte capacitatea lor pentru schimbări ulterioare. De exemplu, aerul comprimat tinde totdeauna să-şi egalizeze presiunea sa cu cea din exterior, fluxul de căldură se scurge spontan de la un corp cald către un corp rece, o substanţă care se dizolvă tinde să se distribuie spontan şi uniform în volumul de solvent, un organism viu adult tinde să sufere un proces degenerativ odată cu vîrsta etc.

Funcţia termodinamică cu care operează al doilea principiu al termodinamicii este denumită *entropie* (S). Ca funcţie termodinamică de stare, entropia este o măsură a gradului de organizare sau probabilitatea de existenţă a unui sistem. Entropia exprimă gradul în care un sistem este deplasat de la o stare de echilibru, însă într-o relaţie invers proporţională: o valoare scăzută a entropiei corespunde la o deplasare mare de la starea de echilibru a sistemului. Conform celui de-al doilea principiu al termodinamicii, orice proces fizic sau chimic spontan evoluează într-un sens care tinde să crească entropia. Deoarece stările de echilibru — în comparaţie cu cele de neechilibru — reprezintă stări mai randomizate, entropia constituie o măsură în sens invers a ordinii moleculare a unui sistem, o valoare mică a entropiei corespunzînd la un grad înalt de ordine moleculară. Astfel, o proteină globulară în forma sa nativă prezintă un înalt grad de organizare moleculară cu o conformaţie ordonată, caracterizată printr-o valoare scăzută a entropiei; aceeaşi proteină — prin denaturare — va prezenta un grad de organizare moleculară mai mică cu o conformaţie neordonată, caracterizată printr-o valoare mai mare a entropiei. Entropia este o proprietate de stare, iar fiecare substanţă este caracterizată printr-un „conţinut" de entropie care depinde de structura sa şi de condiţiile în care ea se găseşte.

Pe măsură ce distribuţia componentelor unui sistem devine întîmplătoare, dezorganizată, entropia creşte şi deci posibilitatea de existenţă a sistemului este mai mare; reciproc, cu cît un sistem prezintă o organizare mai înaltă a componentelor constituente, cu atît entropia este mai scăzută şi deci probabilitatea de existenţă a sistemului este mai mică. În natură, existenţa sistemelor, a stărilor cu grad înalt de organizare este mai putin probabilă decît cea a stărilor cu grad mai mic de organizare, deci cu entropia mai mare. Al doilea principiu al termodinamicii postulează astfel că entropia totală a universului creşte, stările de echilibru fiind cele mai probabile. Un sistem care a atins o stare de dezordine maximă nu mai poate reveni spontan către o stare mai ordonată: unei asemenea legi i se supune şi sistemul format de organismul viu cu mediul său ambiant.

Organismul viu se caracterizează printr-un înalt grad de organizare chimică şi funcţionalitate biochimică care îi conferă o entropie scăzută. Creşterea entropiei sistemului viu este însoţită de o dezorganizare a acestui sistem.

Ca funcţie de stare, entropia (S) depinde numai de starea finală (S_f) şi de starea iniţială (S_i) a sistemului.

Expresia matematică a celui de-al doilea principiu al termodinamicii este dată de relaţia:

$$\Delta S = S_f - S_i = \frac{Q}{T}$$

în care:

S este o modificare finită a entropiei,
Q — căldura absorbită, iar
T — temperatura absolută.

O caracteristică a universului nostru o constituie faptul că pentru orice transformare spontană, modificarea în entropia totală reprezintă un număr pozitiv:

$$\Delta S_{\text{total}} = \left(\frac{Q}{T}\right)_{\text{sistem}} + \left(\frac{Q}{T}\right)_{\text{exterior}} = \Delta S_{\text{sistem}} + \Delta S_{\text{exterior}}$$

Ca un corolar al acestui postulat este faptul că o entropie totală negativă corespunde la procese care nu decurg spontan.

Variațiile entropiei pot caracteriza evoluția diferitelor tipuri de procese. Astfel:

$\Delta S_{\text{sist.}} + \Delta S_{\text{ext.}} > 0$: procese spontane ($\Delta S_{\text{total}}$ este pozitiv)

$\Delta S_{\text{sist.}} + \Delta S_{\text{ext.}} < 0$: procese nespontane ($\Delta S_{\text{total}}$ este negativ)

$\Delta S_{\text{sist.}} + \Delta S_{\text{ext.}} = 0$: condiție de echilibru (ΔS_{total} este zero)

Al doilea principiu al termodinamicii și respectiv variațiile de entropie indică deci sensul, direcția în care pot evolua sistemele.

9.3. ENERGIA LIBERĂ

Conceptul de energie liberă (G) este o măsură a cantității maxime de energie într-un sistem, potențial disponibilă pentru efectuarea unui travaliu în condiții de temperatură și presiune constante. Această măsură este dată, de fapt, de o variație finită a valorii energiei (ΔG) libere cînd se trece de la o stare la alta:

$$\Delta G = G_f - G_i.$$

Energia liberă a unui sistem chimic este direct corelată cu energia chimică totală și deci cu stabilitatea chimică a componentelor individuale ale sistemului respectiv. Într-o reacție chimică de tipul:

$$A \rightleftharpoons B$$

în care compusul A este convertit în compusul B se produce o modificare de energie liberă (ΔG); aceasta constituie cantitatea de energie disponibilă pentru ca A să se transforme în B. În cazul în care conținutul de energie liberă a produsului B (G_B) este mai mic decît conținutul în energie liberă al reactantului A (G_A), atunci variația de energie liberă (ΔG) va reprezenta o cantitate negativă:

$$\Delta G = G_B - G_A$$

deoarece $G_A > G_B$. În aceste condiții, cînd ΔG are o valoare negativă, rezultă că reacția respectivă se petrece cu o descreștere a energiei libere. În mod similar, dacă B este convertit în A reacția implică o creștere a energiei libere, ΔG căpătînd o valoare pozitivă.

Scanned with OKEN Scanner

Rezultă astfel că variația energiei libere (ΔG) a unei reacții chimice constituie o măsură a cantității de energie chimică eliberată în reacție, energie care este utilizabilă pentru efectuarea unui travaliu.

Din datele experimentale, se poate generaliza faptul că reacțiile care se petrec spontan sînt însoțite de o descreștere a energiei libere ($-\Delta G$). O valoare a energiei libere egală cu zero corespunde unui sistem în echilibru:

Deci:

$\Delta G < 0$: procese spontane (ΔG este negativ)
$\Delta G > 0$: procese nespontane (ΔG este pozitiv)
$\Delta G = 0$: condiții de echilibru.

În cazul organismelor vii, variațiile de energie liberă care însoțesc reacțiile biochimice reprezintă fracțiunea de *energie disponibilă* care poate fi utilizată pentru efectuarea unui travaliu chimic necesar realizării diferitelor procese biochimice în condiții izoterme.

Energia liberă este legată de celelalte mărimi termodinamice prin relația:

$$\boxed{\Delta G = \Delta H - T\Delta S}$$

Din această relație reiese că într-o anumită reacție energia liberă (ΔG), adică energia disponibilă, utilizabilă variază în sens invers cu entropia (ΔS), adică cu energia inutilizabilă, degradată. Creșterea entropiei unui sistem se corelează astfel cu scăderea energiei libere a sistemului respectiv.

Reacții exergonice și reacții endergonice. O valoare negativă a energiei libere ($-\Delta G$) corespunde la o reacție generatoare de energie caracteristică unei transformări de la o stare instabilă cu înalt conținut de energie chimică la o stare mai stabilă cu un conținut mai mic de energie chimică. O astfel de reacție este termodinamic favorabilă și se definește ca *reacție exergonică* (generatoare de energie), potențial spontană.

O valoare pozitivă a energiei libere ($+\Delta G$) corespunde la o reacție consumatoare de energie, caz în care reacția respectivă devine posibilă numai cu condiția furnizării de energie sistemului de reacție. O astfel de reacție este termodinamic nefavorabilă ($+\Delta G$) și se definește ca *reacție endergonică* (consumatoare de energie).

Deci, în reacția generală de tipul:

$$\underset{\text{(stare inițială)}}{\text{Reactanți}} \longrightarrow \underset{\text{(stare finală)}}{\text{Produși de reacție}}$$

$$G_i \qquad\qquad G_f$$

$$\Delta G = G_f - G_i$$

— dacă energia chimică a reactanților (G_i) este mai mare decît energia produșilor rezultați (G_f), reacția va fi *exergonică* iar ΔG va avea o valoare negativă ($-\Delta G$);

— dacă energia chimică a reactanților (G_i) este mai mică decît energia produșilor rezultați (G_f), reacția va fi *endergonică* iar ΔG va avea o valoare pozitivă ($+\Delta G$).

Reacțiile exergonice și endergonice sînt *procese cuplate*: energia chimică rezultată din reacțiile exergonice este utilizată în producerea și evoluția reacțiilor endergonice. Cuplarea acestor procese constituie baza fluxului de energie în materia vie, condiționînd conservarea și utilizarea energiei chimice în cadrul celulei vii.

Scanned with OKEN Scanner

9.3.1. ENERGIA LIBERĂ ŞI REACŢIILE DE OXIDOREDUCERE

9.3.1.1. REACŢII DE OXIDARE ŞI REACŢII DE REDUCERE

Numeroase procese biochimice de importanţă fundamentală în metabolismul celular se bazează pe reacţii de oxidare şi de reducere.

Reacţiile de oxidoreducere (redox) se petrec cu transfer de electroni între substanţele care reacţionează.

Oxidarea se defineşte ca o *cedare de electroni* şi se poate formula prin reacţia generală:

$$\boxed{red_1 - ne^- \rightleftharpoons ox_1} \qquad (1)$$

în care:

red_1 este forma redusă sau reducătorul

ne^- — numărul de electroni cedaţi, iar

ox_1 — forma oxidată sau oxidantul.

De exemplu, ionul Fe^{2+} (forma redusă) poate ceda un electron, oxidîndu-se astfel la ionul Fe^{3+} (forma oxidată):

$$Fe^{2+} \xrightarrow{-e^-} Fe^{3+}$$

Ionul Fe^{2+} este deci un reducător pentru că poate furniza electroni.

Oxidarea poate fi formulată şi ca o reacţie de combinare a unui element sau substanţe cu oxigenul ($A + O_2 = AO_2$), ca o reacţie prin care se micşorează proporţia de hidrogen dintr-o moleculă ($BH_2 + 1/2\ O_2 = B + H_2O$), ca o creştere a valenţei pozitive sau o micşorare a valenţei negative a substanţei oxidate ($A - 2e^- = A^{2+}$; $B^{2-} - 2e^- = B$).

Reducerea se defineşte ca o *acceptare de electroni* şi se poate formula prin reacţia generală:

$$\boxed{ox_2 + ne^- \rightleftharpoons red_2} \qquad (2)$$

în care:

ox_2 este forma oxidată sau oxidantul

ne^- — numărul de electroni acceptaţi, iar

red_2 — forma redusă sau reducătorul.

De exemplu, ionul Fe^{3+} (forma oxidată) poate accepta un electron, reducîndu-se astfel la ionul Fe^{2+} (forma redusă:)

$$Fe^{3+} \xrightarrow{+e^-} Fe^{2+}$$

Ionul Fe^{3+} este deci un oxidant pentru că poate accepta electroni.

Reducerea poate fi formulată şi ca o reacţie de combinare a unei substanţe cu hidrogenul ($A + H_2 = AH_2$), ca o reacţie de micşorare a proporţiei de oxigen dintr-o substanţă ($BO + H_2 = B + H_2O$), ca o scădere a sarcinii pozitive sau o mărire a celei negative ($A^{3+} + 1e^- = A^{2+}$; $B^{1-} + 1e^- = B^{2-}$).

9.3.1.2. OXIDOREDUCEREA

Reacţiile de oxidoreducere sînt reacţii cuplate, alcătuind un sistem redox. Sistemele redox funcţionează numai dacă sînt prezenţi atît un reactant care poate ceda electroni cît şi un reactant care poate accepta electronii elibe-

Scanned with OKEN Scanner

rați; rezultă astfel că în sistemul respectiv trebuie să coexiste un cuplu alcătuit dintr-un reducător și un oxidant.

Oxidarea și reducerea sînt două procese care se produc simultan, formînd un sistem sau o reacție de oxidoreducere. Un asemenea sistem implică transferul de electroni între reacția de oxidare și cea de reducere.

Astfel, însumînd reacția (1) și reacția (2) se obține:

$$\begin{array}{l} red_1 - ne^- \rightleftharpoons ox_1 \\ ox_2 + ne^- \rightleftharpoons ed_2 \\ \hline red_1 + ox_2 \rightleftharpoons ox_1 + red_2 \end{array}$$

În sistemul redox, ox_2 reprezintă agentul de oxidare care, primind electroni de la reducătorul red_1, trece în forma redusă (reducător) red_2, iar agentul de reducere red_1 se transformă în forma oxidată (oxidant) ox_1.

Reacțiile redox sînt reversibile, iar reactivitatea cuplului de reacții este determinată de tendința de a ceda sau accepta electroni, tendință care se măsoară prin potențialul de oxidoreducere (redox). Deplasarea unei reacții redox într-un sens sau altul depinde de *diferența de potențial* (tensiune electromotoare) stabilită între reacția de oxidare și cea de reducere: cu cît această diferență este mai mare, cu atît viteza de reacție este mai mare.

Variația energiei libere (ΔG) a unei reacții de oxidoreducere se corelează cu diferența potențialelor de oxidoreducere (ΔE_0) a reactanților. Potențialele de oxidoreducere ale diferiților compuși chimici care au capacitatea de a accepta sau ceda electroni se determină în raport cu potențialul de reducere al hidrogenului pe baza reacției: $H^+ + 1e^- \rightarrow 1/2\ H_2$; acest potențial considerat ca potențial de referință sau standard are la pH $= 7{,}0$ valoarea $E_0' = 0{,}420$ volți.

Unele exemple referitoare la valoarea potențialelor de reducere ale unor coenzime și substraturi care participă la reacții de oxidoreducere în diferite procese metabolice sînt prezentate în tabelul 9—1.

Tabelul 9—1

Potențialele de reducere ale unor coenzime și substraturi care participă la reacții de oxidoreducere

Reacții de reducere	E_0' volți (pH = 7,0)
$1/2\ O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O$	0,816
Citocrom $a - Fe^{3+} + 1\ e^- \rightarrow$ Citocrom $a - Fe^{2+}$	0,290
Citocrom $c - Fe^{3+} + 1e^- \rightarrow$ Citocrom $c - Fe^{2+}$	0,250
Acid dehidroascorbic $+2H^+ + 2e^- \rightarrow$ Acid ascorbic	0,060
Glutation oxidat $+2H^+ + 2e^- \rightarrow$ Glutation redus	0,040
Fumarat $+ 2H^+ + 2e^- \rightarrow$ Succinat	0,030
Oxalilacetat $+ 2H^+ + 2e^- \rightarrow$ Malat	−0,102
Aldehidă acetică $+ 2H^+ + 2e^- \rightarrow$ Alcool etilic	−0,163
Piruvat $+ 2H^+ + 2e^- \rightarrow$ Lactat	−0,190
$NAD^+ + 2H^+ + 2e^- \rightarrow NADH + H^+$	−0,320
$H^+ + 1e^- \rightarrow 1/2\ H_2$	−0,420

Din generalizarea exemplelor menționate se deduce că acei compuși care au potențialele de reducere pozitive (O_2, Fe^{3+} etc.) sînt agenți de oxidare, pe cînd cei cu potențiale de reducere negative sînt agenți reducători (H_2, NADH).

Scanned with OKEN Scanner

Pentru reacțiile de oxidoreducere valoarea energiei libere standard la pH = 7,0 ($\Delta G^{0\prime}$) se calculează pe baza relației:

$$\boxed{\Delta G^{0\prime} = -nF\Delta E_0'}$$

în care:

n este numărul de electroni transferați în reacția de oxidoreducere

F — Constanta Faraday (23 063 calorii/volt) iar

$\Delta E_0'$ — diferența în potențialul de oxidoreducere al reactanților, adică potențialul de oxidoreducere net, exprimat în volți (pH = 7,0).

Exemplul 1. Reacția generală de transformare a aldehidei acetice în alcool etilic:

$$CH_3 - CHO + NADH + H^+ \rightarrow CH_3 - CH_2 - OH + NAD^+$$

se compune din două reacții cuplate cu valori diferite ale E_0':

a) o reacție de *reducere*: $CH_3 - CHO + 2\,H^+ + 2\,e^- \rightarrow CH_3 - CH_2 - OH$ ($E_0' = -0{,}163$ v)

b) o reacție de *oxidare*: $NADH + H^+ \rightarrow NAD^+ + 2H^+ + 2e^-$ ($E_0' = -0{,}320$ v).

Valoarea diferenței de potențial pentru reacția generală este deci:

$$\Delta E_0' = -0{,}163 - (-0{,}320) = 0{,}157 \text{ v.}$$

Cunoscînd această valoare, se poate calcula — pe baza ecuației anterioare — variația energiei libere pentru reacția de transformare a aldehidei acetice în alcool etilic:

$$\Delta G^{0\prime} = (-2)\,(23.063)\,(0{,}157) = -7240 \text{ calorii.}$$

Exemplul 2. O reacție comună țesuturilor vii o constituie oxidarea coenzimei NADH de către oxigenul molecular:

$$NADH + H^+ + 1/2O_2 \rightarrow NAD^+ + H_2O.$$

Variația energiei libere standard ($\Delta G^{0\prime}$) a acestei reacții se calculează pe baza valorii potențialelor de reducere menționate în tabelul anterior. Astfel:

$$\Delta E_0' = 0{,}816 - (-0{,}320) = 1{,}136 \text{ v.}$$

Deoarece în reacția de oxidare a NADH de către O_2 se transferă 2 electroni, variația energiei libere va fi:

$$\Delta G^{0\prime} = -n\,F\,\Delta E_0' = (-2)\,(23\,063)\,(1{,}136)$$

$$\Delta G^{0\prime} = -52\,400 \text{ calorii.}$$

9.4. COMPUȘI MACROERG CI

Procesele bioenergetice se realizează în strînsă corelație cu intervenția unui grup de biomolecule specializate denumite *compuși macroergici* care participă la evoluția fluxului de energie în cadrul celulei vii. Acești compuși se caracterizează printr-un înalt potențial energetic, conținînd o mare cantitate de energie ce se eliberează prin transformarea lor chimică. Hidroliza

Scanned with OKEN Scanner

compușilor macroergici este însoțită de o descreștere în energie liberă (ΔG). Denumirea de compuși macroergici sau de substanțe bogate în energie este atribuită, în general, substanțelor care eliberează o cantitate de energie egală cu 7 000 de calorii/mol sau mai mare decît această valoare. Scăderea mare în energia liberă se petrece în cursul hidrolizei compușilor macroergici, deoarece produșii formați sînt semnificativ mai stabili decît reactanții.

9.4.1. ADENOZINTRIFOSFATUL (ATP)

În ansamblul compușilor macroergici, adenozintrifosfatul deține un rol central în energetica celulei vii. Acest compus macroergic, ubicvitar prezent în materia vie, funcționează ca principal acumulator și furnizor de energie în procesele metabolice. Sistemul ATP-ADP poate fi considerat ca purtătorul material al mesajului energetic specific organismelor vii. ADP (adenozindifosfat) este capabil să accepte o grupare fosforil în reacții metabolice la care participă alți compuși bogați în energie și astfel să se transforme în ATP (adenozintrifosfat). ATP-ul format funcționează ca un compus macroergic generator de energie pentru efectuarea reacțiilor de biosinteză și, totodată, ca o sursă primară de energie pentru realizarea diferitelor activități fiziologice (mișcare, secreție, absorbție etc.).

Rolul central al ATP ca cel mai important compus macroergic implicat în energetica celulară și corelațiile sale generale cu procesele metabolice sînt redate în figura 9.1.

Rezultă astfel că energia chimică eliberată în reacțiile biochimice de degradare (catabolism) este conservată sub formă de ATP și utilizată, ulterior, în reacțiile biochimice de sinteză (anabolism). Deci:

$$ADP + P_i \rightarrow ATP \quad \text{(conservarea și stocarea energiei)}$$

$$ATP \rightarrow ADP + P_i \text{ sau } ATP \rightarrow AMP + PP_i \text{ (generare de energie)}$$

Conversia ATP la ADP este un proces exergonic în care se eliberează o mare cantitate de energie chimică utilă, avînd $\Delta G^{0\prime} = -7\,300$ calorii/mol (sau chiar mai mare):

$$ATP + H_2O \overset{Mg^{2+}}{\rightleftharpoons} ADP + P_i \; (\Delta G^{0\prime} = -7\,300 \text{ calorii})$$

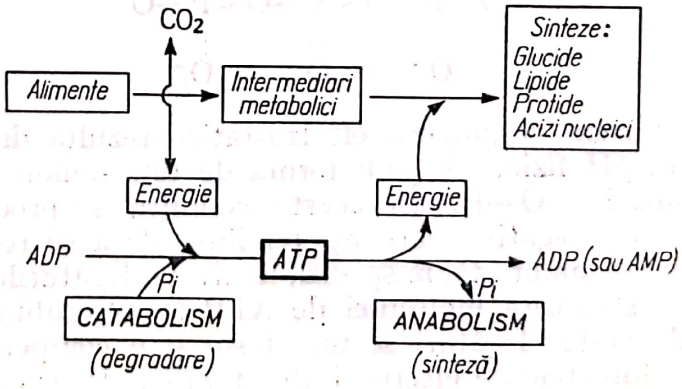


Fig. 9.1. Rolul central al ATP în energetica celulară.

Generarea de energie rezultată prin reacția exergonică de hidroliză a ATP este cuplată cu reacția endergonică de formare a ATP, care servește ca o sursă de energie chimică pentru alte reacții biochimice ATP — depen-

Scanned with OKEN Scanner

dente. Acest cuplu de reacții alcătuiesc un flux ciclic de energie mediat de către ATP (fig. 9.2).

Calitatea moleculei de ATP de a fi un compus macroergic caracterizat printr-o instabilitate termodinamică este determinată de particularitățile structurii sale chimice. În molecula de ATP tind să acționeze anumiți factori de destabilizare manifestați ca respingere electrostatică și ca rezonanță de opoziție. Semnificația acestor aspecte rezultă din analiza structurii ATP (fig. 9.3).

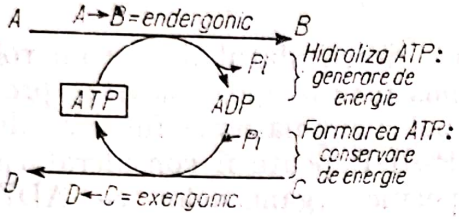
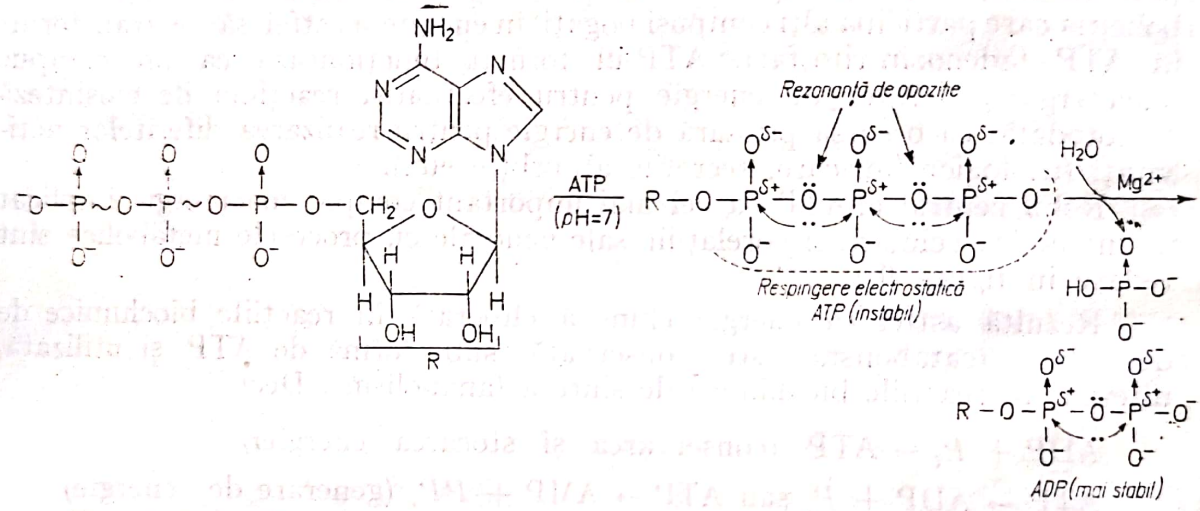
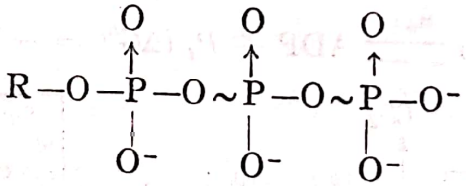


Fig. 9.2. Fluxul ciclic de energie mediat de ATP.

Fig. 9.3. Structura ATP.

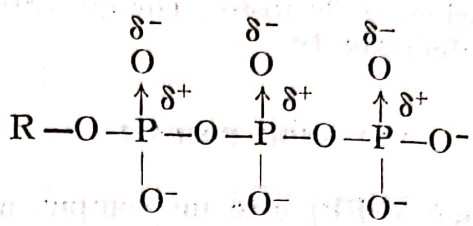


Caracterul ATP de compus macroergic este conferit preponderent de componenta pirofosfat din structura sa care, la $pH = 7{,}0$, este complet ionizată:



Potențialul aferent respingerii electrostatice rezultă din existența probabilă a ATP, la pH fiziologic, sub formă de tetra-anion datorat ionizării celor patru grupări —O—H. În aceste condiții, se produce o localizare spațială a sarcinilor negative care au tendința de a se respinge între ele. Această respingere se manifestă, în special, la nivelul legăturilor —P—O—P—, însă ea afectează structura moleculei de ATP în ansamblul ei. Pe de altă parte, la nivelul acestor legături se manifestă și o competiție între atomii de fosfor pentru dubletele de electroni ale atomilor de oxigen din legăturile —P—O—P—. Această competiție, reflectată ca o rezonanță de opoziție, este determinată de prezența unei sarcini parțial pozitive pe fiecare atom de P, sarcină rezultată din polarizarea legăturii P → O. Efectul de polarizare se datorește atracției electronilor către atomul de O electronegativ, fapt care produce o sarcină parțial negativă (δ^-) pe atomul de O; această

sarcină este compensată printr-o sarcină parțial pozitivă (δ^+) pe atomul de P, ceea ce induce o polarizare a legăturii P → O:



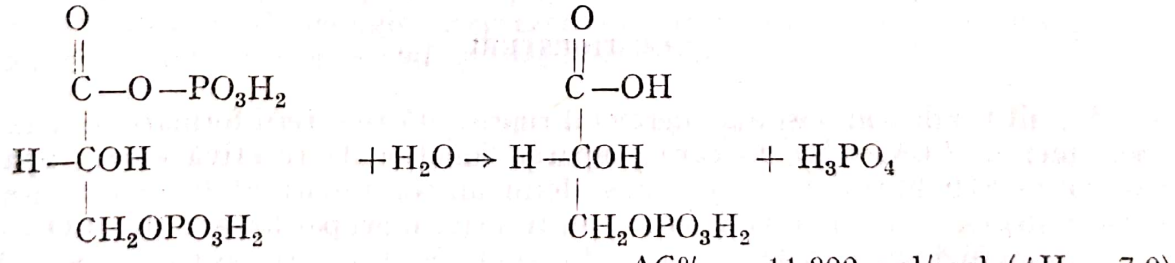
Existența unor sarcini pozitive reziduale de această natură pe atomii de P adiacenți din molecula ATP (sau ADP) implică faptul că aceste molecule conțin suficientă energie internă pentru a compensa repulsia electrostatică manifestată între sarcinile adiacente similare. Clivarea prin hidroliză a grupării pirofosfat determină eliberarea acestei energii exprimată ca $-\Delta G$ totală a reacției.

Cele două forțe de destabilizare manifestate în molecula de ATP și care-i determină un „stress" fizico-chimic sînt compensate de prezența unei suficiente energii chimice în cadrul moleculei respective. Conversia ATP la ADP este însoțită de o diminuare a „stress'-ului fizico-chimic cauzat de cei doi factori menționați și implicit de eliberare de energie. Energia ATP este distribuită în cadrul mai multor legături chimice și nu este limitată numai la o singură sau anumită legătură din molecula sa.

Capacitatea sau funcția energetică a ATP nu este semnificativ dependentă de prezența în molecula sa a adeninei, concluzie confirmată de faptul că trifosfonucleotide derivate de la alte baze azotate — pirimidinice sau purinice — manifestă, de asemenea, caracteristicile unor compuși macroergici (GTP, CTP, TTP, UTP).

9.4.2. ACILFOSFAȚI

Acidul 1,3-Difosfogliceric este un compus macroergic care se formează în cursul degradării glucozei la acid piruvic (glicoliză) și care — prin hidroliză — furnizează o cantitate importantă de energie evaluată la — 11 800 cal/mol:



$\Delta G^{0\prime} = -11.800$ cal/mol (pH = 7,0)

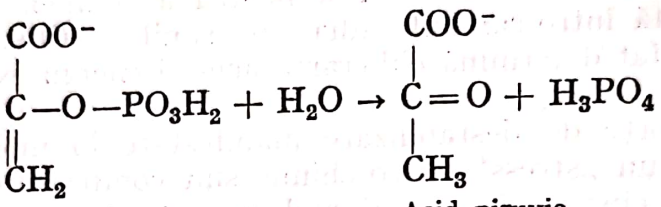
Acid 1,3-Difosfogliceric — Acid 3-Fosfogliceric

Caracterul legăturii $\rangle C = O$ din gruparea acilfosfat constituie un factor determinant în generarea de energie prin hidroliza acil-fosfaților. Această legătură posedă un pronunțat caracter polar datorită tendinței electronilor implicați în dubla legătură de a fi atrași spre atomul electro-

negativ de oxigen. În aceste condiții, este necesară o anumită cantitate de energie pentru a învinge repulsia electrostatică dintre sarcinile parțial pozitive de la atomii de carbon și de fosfor, energie care va putea fi eliberată prin hidroliza acil-fosfatului respectiv.

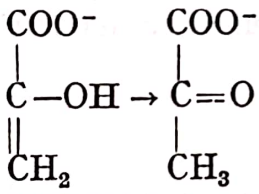
9.4.3. ENOIL FOSFAȚI

Acidul fosfoenolpiruvic (PEP) este un compus macroergic care se formează, de asemenea, în procesul de degradare a glucozei la acid piruvic și care participă la regenerarea ATP din ADP. Energia rezultată prin hidroliza PEP este evaluată la −14 800 cal/mol ($pH = 7{,}0$):



Acid fosfoenolpiruvic — Acid piruvic

Valoarea apreciabilă a energiei eliberate la hidroliza PEP este atribuită faptului că forma enolică a acidului piruvic ca atare este instabilă și că ea devine stabilizată în PEP prin esterificare cu acid fosforic. În reacția de hidroliză a PEP însoțită de eliberare de energie se formează acidul enolpiruvic instabil, care se izomerizează imediat la acidul piruvic (forma ceto) mult mai stabil:



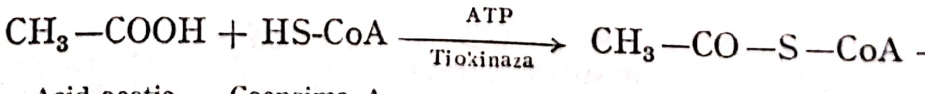
Forma enol (instabilă) — Forma ceto (stabilă)

Această reacție de tautomerizare contribuie la creșterea valorii energiei eliberate prin hidroliza PEP care atinge astfel — 14 800 cal/mol. Reacția de tautomerizare are astfel o semnificație majoră, PEP fiind unul din compușii cei mai bogați în energie.

9.4.4. TIOESTERI

Un alt tip de compuși macroergici îl reprezintă tioesterii formați pe baza coenzimei *A* (CoA—SH), în care gruparea funcțională reactivă este gruparea tiol (—SH) liberă; acești compuși dețin un rol important în metabolism și participă ca formă metabolic activă în transferul grupărilor acil (R—CO—).

Tioesterii derivați de la coenzima *A* (—CO—S—CoA), respectiv acil-S-CoA derivații, se formează în reacția dintre acizii carboxilici și CoA—SH, reacție ATP- dependentă și catalizată de enzima tiokinaza. De exemplu, acetil-S-coenzima A, cel mai important tioester al CoA-SH, rezultă din următoarea reacție:



Acid acetic — Coenzima A — Acetil-Coenzima A

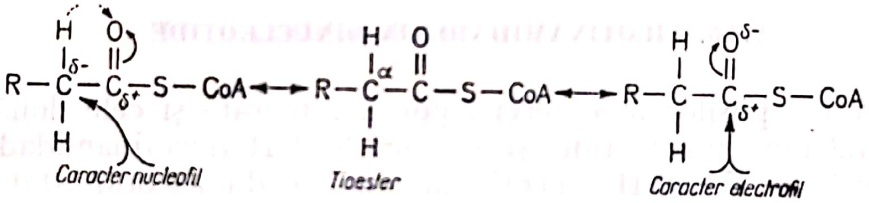
Scanned with OKEN Scanner

Deoarece reacţia este dependentă de hidroliza ATP şi are un caracter endergonic, tioesterul format reprezintă un *compus macroergic* avînd o stare energetică superioară în comparaţie cu reactanţii.

De exemplu, energia rezultată din reacţia de hidroliză a acetil-coenzimei A este de aproximativ — 7 500 cal/mol: CH_3-CO-S-CoA $\xrightarrow{HOH}$ CH_3—COOH + + CoA—SH.

Generalizînd, rezultă că tioesterii astfel formaţi sînt compuşi bogaţi în energie în care gruparea acil se află într-o stare energetică superioară; în aceste condiţii, gruparea acil a unui tioester devine mai aptă de a participa la reacţiile biochimice decît acidul liber respectiv.

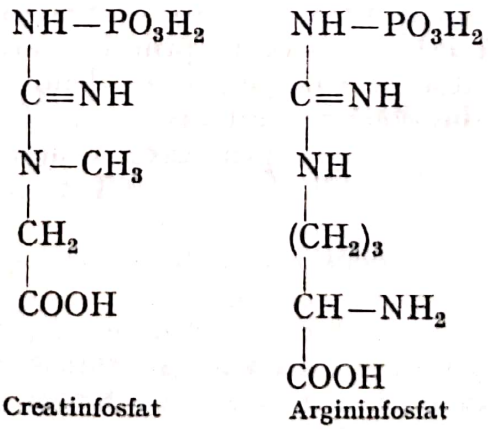
Regiunile grupării acil cele mai susceptibile de a reacţiona sînt atomul de carbon carbonilic $\left(\rangle C{=}O\right)$ şi atomul de carbon α învecinat. Spre deosebire de oxiesteri, tioesterii posedă un pronunţat caracter carbonilic, astfel încît, prin deplasarea electronilor, atomul de carbon capătă o sarcină parţial pozitivă (δ^+), iar atomul de oxigen o sarcină parţial negativă (δ^-); în aceste condiţii, atomul de hidrogen aparţinînd atomului de carbon α adiacent tinde să disocieze ca un proton, conferind astfel o sarcină parţial negativă atomului de carbon α. Aceste particularităţi ale tioesterilor derivaţi de la coenzima A pot fi evidenţiate prin următoarele mecanisme:



Interpretările menţionate reflectă caracterul electrofil al atomului de carbon provenit din gruparea carboxil, şi respectiv caracterul nucleofil al atomului de carbon α. Reacţiile biochimice la care participă tioesterii coenzimei A se pot explica pe baza acestei reactivităţi dualiste.

9.4.5. GUANIDIN FOSFAŢI

Constituie un alt tip de compuşi macroergici cu rol important în stocarea şi transferul de energie. Reprezentanţi ai acestei clase denumită generic fosfageni sînt *creatinfosfatul* şi *argininfosfatul:*



Creatinfosfat Argininfosfat

Acești compuși macroergici rezultă prin fosforilarea enzimatică a creatinei (acid metilguanidin acetic) și a argininei în prezența ATP:

$$\text{Creatină} + \text{ATP} \rightleftharpoons \text{Creatinfosfat} + \text{ADP}$$

Hidroliza creatinfosfatului este o reacție puternic exergonică:
Creatinfosfat + $H_2O \rightarrow$ Creatină + H_3PO_4 ($\Delta G^{0\prime} = -10\,300$ cal/mol).
Creatinfosfatul (CP) este prezent în toate tipurile de mușchi ai vertebratelor și are rolul unui rezervor important de grupări fosfat macroergic care asigură menținerea concentrației de ATP ca sursă directă de energie în contracția musculară. Generarea de energie necesară contracției musculare se realizează pe baza unor reacții cuplate la care participă CP și ATP:

$$\text{CP} + \text{ADP} \rightarrow \text{Creatină} + \text{ATP}$$

$$\text{ATP} \rightarrow \text{ADP} + H_3PO_4 + \text{energie}$$

Într-un prim stadiu, are loc transferul de fosfat pe ADP (reacția Lohmann), iar ulterior ATP-ul format este hidrolizat, în prezența adenozintrifosfatazei cu eliberare de energie, formîndu-se din nou ADP; acesta este refosforilat pe seama CP, în cadrul reacțiilor cuplate menționate. Scindarea CP nu se poate petrece înaintea scindării ATP, care este furnizorul de ADP cu care reacționează CP.

9.4.6. NICOTINAMIDADENIN DINUCLEOTIDE

În clasa compușilor macroergici pot fi integrate și cele două tipuri de nicotinamidadenin dinucleotide, și anume: NADH (nicotinamidadenin dinucleotid redus) și NADPH (nicotinamidadenin dinucleotidfosfat redus).
Acești compuși cu rol de coenzime ale unui mare număr de dehidrogenaze prezintă o importanță biochimică deosebită în generarea bioenergiei și depozitarea acesteia sub formă de ATP.
În calitatea lor de coenzime, NADH și NADPH funcționează ca agenți de transfer ai atomilor de hidrogen în reacțiile de oxidoreducere a diferitelor substraturi, putînd exista în formă oxidată (NAD^+, $NADP^+$) și în formă redusă (NADH, NADPH):

$$\underset{\text{(substrat redus)}}{S-H_2} + \underset{\text{(forma oxidată)}}{NAD^+} \rightleftharpoons \underset{\text{(substrat oxidat)}}{S} + \underset{\text{(forma redusă)}}{NADH + H^+}$$

Funcția de compus macroergic atribuită în special NADH derivă din faptul că H transferat de la un substrat prin intermediul formei reduse NADH este oxidat în cadrul unei secvențe de reacții de oxidoreducere, iar energia astfel rezultată este conservată prin formarea de ATP.
Acest proces generator de energie poartă denumirea de *fosforilare oxidativă* și este constituit din două ansambluri de reacții cuplate:
a) *transfer succesiv de electroni* prin care se activează, respectiv se reduce oxigenul molecular care devine capabil de a forma molecula H_2O, în prezența [illegible]
b) *biosinteza ATP*, care conservă astfel energia rezultată din oxidarea $H(2\,H \rightarrow 2\,H^+ + 2e^-)$.
Fosforilarea oxidativă constituie astfel mijlocul prin care celula poate să convertească energia chimică a diferitelor substanțe exogene de natură alimentară în energie metabolică utilizabilă sub formă de ATP.

Scanned with OKEN Scanner

O reprezentare generală a procesului de fosforilare oxidativă cu evidențierea participării NADH și a generării de energie este redată în figura 9.4. Atributul de compus macroergic conferit NADH provine din participarea sa în procesul de fosforilare oxidativă prin transferul de H și respectiv prin furnizarea de electroni în asociere cu biosinteza ATP.

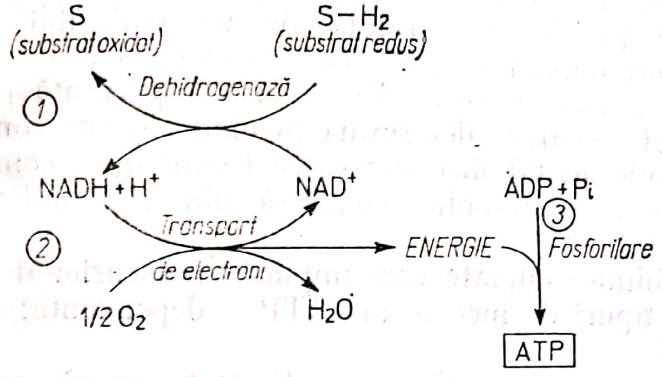
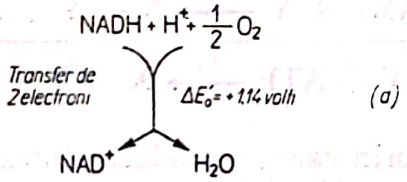


Fig. 9.4. Participarea NADH în procesul de fosforilare oxidativă:

1 — formarea NADH prin dehidrogenarea substratului redus; *2* — oxidarea NADH prin transport de electroni în prezența O_2 ca acceptor final de electroni (proces exergonic); *3* — formarea ATP în prezența ADP și a fosfatului anorganic (proces endergonic); *2 + 3* — fosforilare oxidativă.

În procesul de oxidoreducere la care participă NADH:



se creează o diferență pozitivă de potențial (+ 1,14 v); procesul este *exergonic*, iar valoarea energiei eliberate depinde de mărimea acestei diferențe de potențial.

Semnificația energetică a diferenței de potențial creată între reacția inițială ($NADH \rightarrow NAD^+$ sau $NADPH \rightarrow NADP^+$) și reacția de oxidare finală ($1/2\ O_2 \rightarrow H_2O$) rezultă din aplicarea ecuației care exprimă variația energiei libere standard ($\Delta G^{0\prime}$) pentru reacțiile de oxidoreducere:

$$\Delta G^{0\prime} = -nF\,\Delta E'_0. \quad \text{(b)}$$

Înlocuind în ecuația (b) valorile corespunzătoare din reacția (a) se obține:

$$\Delta G^{0\prime} = -(2)\ (23\,000)\ (1{,}14) = \\ = -\ 52\,440 \text{ calorii.}$$

Tabelul 9—2

Tipuri de compuși macroergici și valorile energiei libere standard (pH=7,0)

Compus macroergic	$\Delta G^{0\prime}$ (calorii/mol) (pH = 7,0)
$ATP \rightarrow ADP + P_i$	−7 300
$ATP \rightarrow AMP + PP_i$	−8 600
Acil fosfați	−11 800
Enoil fosfați	−14 800
Tiosteri ai coenzimei A	− 7 500
Creatinfosfat	−10 300
$NAD(NADPH) \rightarrow NAD^+(NADP^+)$	−52 600*

* În prezența O_2 ca agent de oxidare.

Rezultă astfel că procesul de fosforilare oxidativă este puternic exergonic și că nicotinamidadenin dinucleotidele reduse care participă în acest proces reprezintă compuși macroergici.

În tabelul 9—2 sînt prezentate tipurile de compuși macroergici și valorile energiei libere standard la pH = 7,0 ($\Delta G^{0\prime}$).

Scanned with OKEN Scanner

9.5. REACȚII BIOENERGETICE CUPLATE

În ambianța metabolică a celulelor, energia rezultată din reacțiile exergonice este frecvent folosită pentru realizarea anumitor reacții endergonice. Asemenea reacții devin cuplate și ele se bazează pe principiul că o reacție termodinamic (energetic) nefavorabilă devine realizabilă printr-o reacție complementară termodinamic (energetic) favorabilă. Cuplarea reacțiilor exergonice și endergonice prezintă o deosebită importanță pentru economia energetică a celulei, deoarece determină în mod eficient conservarea și utilizarea energiei chimice metabolice, precum și fluxul unor compuși metabolici intermediari într-o cale metabolică compusă din mai multe reacții consecutive.

Reacțiile biochimice cuplate care implică un transfer de energie se realizează prin două tipuri de mecanisme ATP — dependente:

Mecanismul 1

Implică realizarea unei reacții catalizată de o singură enzimă (E_1), transferul de energie efectuîndu-se prin formarea unui compus intermediar activat (X ~ AMP).

Exemplu:

$$X + ATP \xrightarrow{E_1} (X \sim AMP) + PP_i \qquad (a)$$

$$X \sim AMP + Y \xrightarrow{E_1} X - Y + AMP \qquad (b)$$

Reacția totală: $X + Y + ATP \xrightarrow{E_1} X - Y + AMP + PP_i$

O asemenea reacție prin care se produce sinteza compusului X—Y din reactanții X și Y devine realizabilă sub raport energetic prin cuplarea a două reacții parțiale (a) și (b); astfel, reacția termodinamic nefavorabilă $X + Y \rightarrow X - Y (+ \Delta G^0)$ se cuplează cu reacția termodinamic posibilă de hidroliză a ATP ($-\Delta G^0$) furnizoare de energie.

O variantă a acestui mecanism întîlnită în reacțiile biochimice este și următoarea:

$$X + ATP \xrightarrow{E_1} (X \sim P_i) + ADP$$

$$(X \sim P_i) + Y \xrightarrow{E_1} X - Y + P_i$$

Reacția totală: $X + Y + ATP \xrightarrow{E_1} X - Y + ADP + P_i$

Mecanismul 2

Implică realizarea unei reacții totale din două reacții consecutive distincte care sînt catalizate de două enzime diferite; într-o asemenea reacție, compusul intermediar comun este produsul primar al primei reacții parțiale și reactantul primar al celei de a doua reacții parțiale.

Exemplu:

Reacția totală: $X + Y + ATP \xrightarrow{E_1} \xrightarrow{E_2} X - Y + ADP + P_i$ este catalizată de enzimele E_1 și E_2 și se compune din două reacții cuplate:

(a) $X + ATP \xrightarrow{E_1} X - P + ADP$

(b) $X - P + Y \xrightarrow{E_2} X - Y + P_i$

Scanned with OKEN Scanner

Rezultă astfel că reacția $X + Y \rightarrow X - Y$ termodinamic nefavorabilă ($+\Delta G^0$) este cuplată cu o reactie termodinamic favorabilă ($-\Delta G^0$) de hidroliză a ATP, care permite transferul de energie necesar formării compusului $X - Y$.

9.6. TESTE DE VERIFICARE

1. Să se caracterizeze efectul caloric și energetic al diferitelor reacții biochimice prin valoarea entalpiei și a energiei libere.
2. Să se formuleze sub formă de schemă rolul central al ATP în reacțiile de degradare (catabolice) și de sinteză (anabolice).
3. Reacția generală de formare a acetil-Coenzimei *A* este:

$$CH_3—COOH + CoA—SH + ATP \rightarrow CH_3—CO—SCoA + AMP + PP_i$$

Această reacție generală este constituită din două reacții cuplate, cu formarea unui compus intermediar. Să se redea care sînt aceste reacții cuplate.

4. În reacția de oxidoreducere:

(a) $CH_3 — CO — COOH$ (acid piruvic) $+ NADH + H^+ \rightleftharpoons$

$CH_3—CHOH—COOH$ (acid lactic), acidul piruvic este redus de către enzima lactat dehidrogenaza la acid lactic. Cunoscînd că potențialul standard de oxidoreducere al reacției:

Piruvat $+ 2H^+ + 2e^- \rightarrow$ Lactat este $E'_{01} = -0{,}190$ volți, iar potențialul standard de oxidoreducere al reacției:

$NAD^+ + 2H^+ + 2e^- \rightarrow NADH + H^+$ este $E'_{02} = -0{,}320$ volți, să se calculeze variația energiei libere (ΔG^0) a reacției (a), știind că $F = 23\,000$ cal/volt și $n = 2$.

5. Să se calculeze variația energiei libere (ΔG^0) pentru reacția:
glucoză + ATP → Glucozo-6-fosfat + ADP, cunoscînd că această reacție se compune din două reacții cuplate, fiecare avînd anumite valori ΔG^0:

a) $ATP + H_2O \rightarrow ADP + P_i$ $\qquad (\Delta G^0_1 = -7\,700$ cal/mol)

b) Glucoză $+ P_i \rightarrow$ Glucozo-6-fosfat $+ H_2O$ $\quad (\Delta G^0_2 = +\,3\,140$ cal/mol).

Să se indice dacă reacția totală este endergonică sau exergonică.

6. Variația energiei libere (ΔG^0) în reacția generală de conversie a glucozei la acid lactic are o valoare de $-52\,000$ cal/mol. În condiții anaerobe, această reacție este cuplată cu formarea a 2 moli ATP per moleculă de glucoză. Să se calculeze valoarea ΔG^0 pentru aceste reacții cuplate:

a) $C_6H_{12}O_6$ (glucoză) $\rightarrow 2\,CH_3 — CHOH — COOH$ (acid lactic)

$$\Delta G^0_1 = -52\,000 \text{ cal/mol}$$

b) $2ADP + 2P_i \rightarrow 2\,ATP$

$$\Delta G^0_2 = +\,8\,000 \text{ cal/mol} \times 2 = +\,16\,000 \text{ cal.}$$

7. Să se argumenteze mecanismul prin care nicotinamidadenin dinucleotidele se comportă ca compuși macroergici.

Scanned with OKEN Scanner

10

METABOLISM

10.1. INTRODUCERE ÎN STUDIUL METABOLISMULUI

Considerații generale. Proprietatea principală a organismelor animale este de a lua substanțe nutritive din mediul înconjurător, de a le transforma și de a-și obține astfel componenții structurali și funcționali proprii. Multă vreme s-a crezut că substanțele componente ale celulelor și țesuturilor vii au o durată de existență egală cu cea a formațiunilor morfologice celulare. Cercetările recente au demonstrat faptul că substanțele chimice cu rol structural sînt într-o continuă transformare prin procese de degradare și de formare, fapt ce asigură o reînnoire morfologică. Ca urmare a acestor transformări organismelor li se asigură dezvoltarea, creșterea, reproducția etc. Ansamblul transformărilor chimice și fizico-chimice ale compușilor chimici din organismul viu poartă denumirea de metabolism, care se studiază în partea de *biochimie dinamică*. Toate aceste reacții sînt desemnate prin *metabolism intermediar* și cuprind procese de sinteză (anabolism) și de degradare (catabolism). În urma proceselor catabolice rezultă energia necesară organismului. Pe calea metabolismului, organismele animale își sintetizează glucidele, lipidele și protidele proprii. Catabolismul și anabolismul sînt laturi pe care le îmbină procesul general de transformare a substanțelor în organismele vii. Încetarea metabolismului înseamnă moartea organismului. Între transformările metabolice ale glucidelor, lipidelor și protidelor există o strînsă corelație și interdependență, care au anumite particularități legate de specie și care vor fi prezentate la sfîrșitul acestei lucrări.

Substanțele alimentare introduse în organismele animale urmează o cale lungă și complexă de transformări fizice și chimice, dintre care principalele etape sînt: *digestia, absorbția, metabolismul intermediar* și *eliminarea* din organism. Acestea constituie dealtfel principalele etape ale metabolismului general.

Transformările pe care le suferă hrana în aparatul gastrointestinal poartă denumirea de digestie. Aceste transformări constau din prelucrări mecanice ale alimentelor (masticare), din transformări fizice (dizolvare, emulsionare, îmbibare) și din modificări chimice (hidroliză, esterificări, degradări, sinteze

Scanned with OKEN Scanner

etc.). Marea majoritate a substanțelor sînt supuse acestor transformări. Se cunosc numai puține substanțe care pot fi folosite de organism, așa cum se află în natură și anume: oxigenul, apa, sărurile, monoglucidele, aminoacizii, acizii grași și altele. Substanțele cu structură mai complexă nu pot fi utilizate de către organism decît după o prealabilă transformare în aparatul digestiv. Principalii factori de care depinde digestia sînt enzimele din: salivă, din sucul gastric, sucul duodenal, intestinul subțire, precum și din flora bacteriană. De aici rezultă faptul că principalele transformări ale substanțelor în organismele animale sînt cele biochimice.

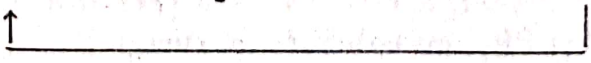
În urma transformărilor metabolice ale substanțelor organice cum sînt: glucidele, lipidele și protidele, rezultă acid acetic activat, care constituie punctul de legătură anabolică și catabolitică din organism. De la acid acetic activat se formează mai multe clase de compuși organici, așa cum se va arăta în cele ce urmează. Prin formarea de compuși cu structură mai simplă se poate realiza absorbția lor în aparatul gastrointestinal și apoi să fie vehiculați la nivel celular în vederea transformării lor biochimice mai profunde. În desfășurarea proceselor anabolice se consumă energie. Această energie provine în cea mai mare parte din procesele catabolice. Înmagazinarea energiei din reacțiile exergonice se face în compuși macroergici, de tipul ATP și ADP. O mică parte din energia rezultată în catabolism este transformată în căldură. În cazul cînd organismul animal este în repaus complet bilanțul energetic este denumit *metabolism bazal*. Prin intrarea organismului în activitate, el are nevoie de un plus de energie, numită energie funcțională.

În organismele animale, substanțele care joacă un rol deosebit sînt proteinele și acizii nucleici. Aceste substanțe sînt extrem de dinamice și cu particularități deosebit de importante pentru organism. Ele sînt substanțe atît cu rol structural, cît și cu funcții informaționale celulare, din acest motiv biochimia proteinelor și a acizilor nucleici constituie problema fundamentală a biochimiei moderne și a geneticii moleculare.

Metode de investigare a metabolismului. În lămurirea proceselor metabolice au fost efectuate numeroase investigații. Metodele sînt multiple și ele au fost perfecționate în mod continuu. Ele constau în aplicarea metodelor moderne fizice și chimice adaptate la organismele animale. Pentru delimitarea unui proces metabolic luat în studiu se face uz, de obicei, de animale de experiență de laborator, de microorganisme, de organe izolate, de omogenate celulare fracționate pe structuri, de culturi de țesuturi sau de organe etc. De asemenea, se face uz de compuși ce conțin izotopi marcați radioactivi sau izotopi marcați stabili, ceea ce face posibilă urmărirea transformărilor biochimice metabolice.

Reglarea metabolismului. Echilibrul chimic care există între diferite procese biochimice se realizează prin anumite sisteme de reglare, unele prin mecanisme specifice, altele prin mecanisme nespecifice. Așa de exemplu, o anumită reacție biochimică este controlată de enzima interesată (enzima reglatoare). În acest caz enzima reacționează cu substratul prin fixarea lui la centrul activ al enzimei. Activitatea acestei enzime poate fi mărită sau micșorată sub influența unor efectori (v. Enzime). Întrucît majoritatea reacțiilor enzimatice sînt sisteme în echilibru, creșterea concentrației produsului de reacție influențează viteza de reacție. Așa de exemplu, biosinteza bazelor pirimidinice din carbamilfosfat, pe măsură ce se formează citidintrifosfat (CTP), prima etapă a reacției este treptat inhibată:

Carbamilfosfat + Acid aspartic → carbamil-aspartat →→→ citidintrifosfat.



Scanned with OKEN Scanner

În molecula enzimelor reglatoare în afara centrilor catalitici activi, unde are loc reglarea substratului, mai există și alții — numiți centri allosterici — unde se leagă efectorii (activatori și inhibitori) allosterici. În general, enzimele reglatoare sînt sensibile la acțiunea produsului final al reacției, cu rol de efector allosteric.

Legarea produsului de reacție în asemenea transformări allosterice se realizează în alt loc, la o altă grupare de pe enzimă, fapt ce determină blocarea enzimei, foarte probabil ca urmare a unei distorsiuni a configurației exacte a enzimei și împiedică astfel combinarea enzimei cu substratul.

Reglarea proceselor metabolice în organismele animale se realizează și și prin acțiunea hormonilor (v. Hormoni). Așa cum s-a arătat, factorii de eliberare hipotalamici acționează asupra glandei hipofize, declanșînd eliberarea hormonilor hipofizari, care acționează asupra producerii lor în celelalte glande endocrine. Producerea factorilor de eliberare hipotalamici este dependentă de concentrația din sînge a anumitor compuși sau hormoni. Efectele hormonilor asupra proceselor metabolice din organismele animale pot fi atît de activare a biosintezei, cît și de inhibare a catabolismului. Hormonii îndeplinesc funcția de efectori ai biosintezei enzimelor, ceea ce denotă că hormonii sînt activatori ai biosintezei la nivel celular (v. Biosinteza proteinelor). De asemenea, hormonii reglează catabolismul lipidelor, îndeosebi lipoliza, proces care este dependent de AMP-ciclic. În glicemie intervin insulina și hormonii glucocorticosteroizi, care acționează antagonist prin faptul că insulina induce transformarea glucozei în glicogen, iar hormonii glucocorticosteroizi facilitează transformarea aminoacizilor în glucoză:

$$\text{Aminoacizi} \xrightarrow{\text{Glucocorticosteroizi}} \text{glucoză} \xrightarrow{\text{insulină}} \text{glicogen}$$

Căi metabolice sau procese metabolice. Calea metabolică constă dintr-o succesiune de reacții biochimice care alcătuiesc un complex de transformări, ramificat și intercorelat. În studiul biochimiei dinamice este deosebit de important de a se studia și cunoaște cele mai importante secvențe metabolice ale unui proces și de a le înțelege cît mai complet semnificația lor. Pentru aceasta este necesar ca mai întîi să se studieze reacțiile biochimice individuale și după aceea calea metabolică. Înțelegînd logica legăturii reacțiilor individuale din secvențele căii metabolice este mai ușor de înțeles calea metabolică în ansamblul ei.

Dintre căile metabolice care se realizează în organismul animal sînt și cele care asigură celula vie cu ATP și cu alți intermediari macroergici, întrucît aceștia pot fi utilizați în produsele anabolice și în diferite procese de natură endergonică. De aici rezultă faptul că, primele căi metabolice ce se realizează sînt cele de catabolizare și cele legate de formarea ATP.

Produsele alimentare introduse în organism suferă diferite transformări în care biomoleculele complexe sînt scindate în procesul de digestie, prin reacția de hidroliză în biomolecule monomere, care pot fi absorbite de celulă. Procesul de absorbție se realizează cu consum energetic. Așa de exemplu, la hidroliza lipidelor complexe se pun în libertate acizi grași. Înainte însă de a fi catalizați, acizii grași sînt legați de coenzima A, cu formarea unui derivat al acidului gras bogat în energie numit acil-coenzimă A. În formarea acestui derivat macroergic este necesară prezența ATP, care prin hidroliză dă naștere la AMP și PP_i, cu eliberare de energie.

Scanned with OKEN Scanner

10.2. PROCESE DE OXIDOREDUCERE ÎN CELULELE VII

Luînd în considerare în totalitate organismele vii, se constată că ele nu se comportă toate în aceeaşi manieră în ceea ce priveşte nevoia de oxigen. În timp ce unele nu pot trăi fără un aport regulat de oxigen, altele pot trăi o perioadă lungă de timp, iar pentru altele oxigenul este dăunător pentru dezvoltarea lor. Există deci organisme care trăiesc în aerobioză şi altele în anaerobioză, mai exact oxibiotice şi anoxibiotice. Primele consumă oxigen, ele deci respiră şi îşi iau energia necesară din oxidarea substanţelor organice, iar celelalte fermentează şi îşi iau energia din reacţii de degradare a substanţelor organice în care oxigenul nu este prezent de la început. În acest mod se poate face deosebirea între respiraţie şi fermentaţie. Această distincţie este mai mult aparentă decît reală, deoarece fiinţe anaerobe nu există, decît că ele sînt mai superficiale la nevoia de oxigen, că ele îşi iau oxigenul molecular gazos sau dizolvat din mediul în care se află, că ele utilizează oxigenul deja combinat în compuşi organici cu care se hrănesc. De aici reiese faptul că nu există viaţă fără a consuma oxigen şi că nu există o opoziţie esenţială între respiraţie şi fermentaţie, cele două procese fiind strîns legate între ele. Aşa de exemplu, degradarea glucidelor în ţesutul muscular are loc printr-o succesiune de reacţii care în prima parte sînt anoxibiotice, în timp ce ciclul de reacţii nu se poate termina fără intervenţia oxigenului. Acest fapt se întîlneşte frecvent în studiul metabolismului.

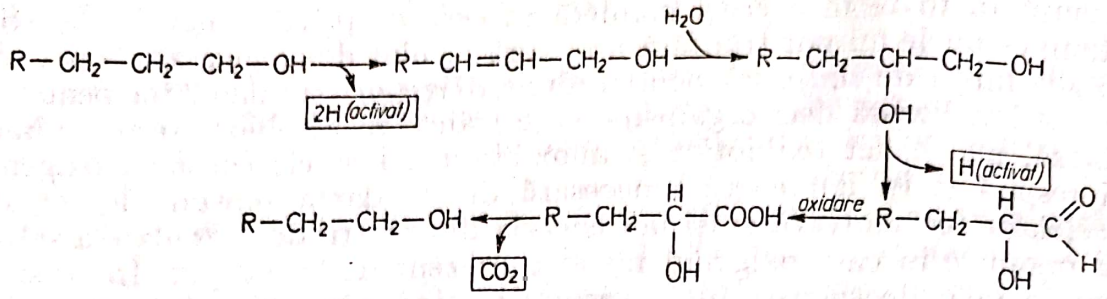
Reacţiile de oxidare care se petrec în organism se pot realiza şi în laborator. L a v o i s i e r, încă în 1780, a enunţat că viaţa este o „ardere": substanţele organice complexe din produsele alimentare ard în contact cu oxigenul şi sînt transformate în CO_2 şi H_2O, asemănător arderii chimice. Între cele două fenomene de ardere biologică sau oxidare biologică şi ardere chimică există diferenţe esenţiale, chiar dacă produşii finali sînt aceiaşi: CO_2 şi H_2O, iar energia realizată în timpul arderii chimice tehnologice şi a oxidării biologice este aproape egală, cu mici diferenţe. Aşa de exemplu, comparînd valoarea energiei realizate prin formarea de CO_2 din C şi din compuşi organici se constată cam acelaşi ordin de mărime şi anume:

	kcal/mol CO_2
$C + O_2 \rightarrow CO_2$; $\Delta H = -94$ kcal	−94
glucoză: $C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O$; $\Delta H = -674$kcal	−114
acid palmitic: $CH_3-(CH_2)_{14}-COOH + 23O_2 \rightarrow 16CO_2 + 16H_2O$; $\Delta H = -2\,379$ kcal	−148

În cazul arderii chimice a unui compus organic *in vitro*, temperatura ridicată atinsă determină unirea directă a carbonului şi hidrogenului acelui compus cu oxigenul. Cu totul alta este situaţia în organismul viu în care temperatura degajată este compatibilă cu viaţa, deoarece compuşii organici nu se dezintegrează în organismele vii, iar carbonul lor nu se uneşte direct cu oxigenul. Procesele chimice din organismele vii au loc la o temperatură constantă, în jur de 37°C şi numai o mică parte din energia de oxidare apare sub formă de căldură liberă; cea mai mare parte din căldură fiind convertită în energie chimică. Hidrogenul este singurul element al compuşilor organici care inter-

Scanned with OKEN Scanner

vine în mod activ în reacţiile de oxidare. Dioxidul de carbon apare printr-un proces secundar, dar strîns legat de cel de oxidare, în care se ajunge în final la un proces de decarboxilare:



10.2.1. CATENA OXIDĂRII CELULARE SAU OXIDAREA TERMINALĂ

Oxidarea terminală. În condiţii de aerobioză, condiţii în care se află toate organismele animale, hidrogenul diferiţilor compuşi organici este preluat de diferite coenzime, care îl cedează, după o succesiune de reacţii, oxigenului molecular:

$$R{-}CH_2{-}OH + \text{Enzimă} \rightarrow R{-}CHO + \text{Enzimă } H_2 \text{ (NADH, NADPH,}$$

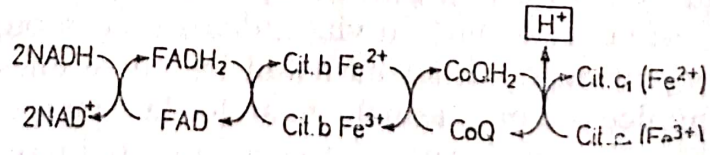
$$FADH_2,\ FMNH_2 \text{ etc.). Enzimă } H_2 + O_2 \rightarrow H_2O + \text{Enzimă}$$

Procesul de formare a H_2O este localizat în membrana internă a mitocondriilor, acolo unde se petrece şi ciclul acizilor tricarboxilici (ciclul ATC). Acest fapt denotă că reacţiile ce au loc în ciclul ATC, în procesul de respiraţie, nu se opresc, ci continuă în *oxidarea terminală.*

Formarea apei este reacţia producătoare de energie decisivă a metabolismului. Întrucît prin combinarea hidrogenului cu oxigenul energia liberă este $\Delta G^\circ = -57$ kcal/mol. Această cantitate este prea mare pentru o singură reacţie biochimică şi este împărţită în fragmente individuale mai mici, astfel că, de exemplu, NADH nu reacţionează direct cu oxigenul, ci mai întîi trece printr-o serie de etape intermediare. Hidrogenul este deci transportat de o serie de intermediari, alcătuind o catenă sau un şir de reacţii de oxidare. Transportorii hidrogenului sînt NADH-dehidrogenaza, coenzima Q (sau ubichinonă), citocromii *b*, *c*, c_1, *a* şi a_3. Pentru participarea în continuare a dehidrogenazelor reduse este necesar ca ele să fie oxidate, respectiv să cedeze hidrogenul preluat.

— *Etapele principale ale catenei oxidării terminale.* Pentru ca hidrogenul substratului şi oxigenul molecular să se poată uni în formarea de H_2O, în condiţiile existenţei lor în organismele animale, este necesar ca atît hidrogenul, cît şi oxigenul să fie activate.

Activarea hidrogenului, respectiv trecerea lui pînă la forma ionică, H^+, se realizează printr-un şir de reacţii, redate în schema următoare:



Electronul cedat de hidrogen citocromului *c*, cu trecerea acestuia în formă redusă, este transferat de-a lungul unui şir de sisteme enzimatice oxidoredu-

Scanned with OKEN Scanner

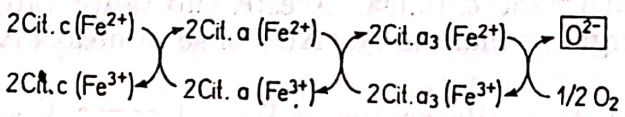
cătoare, iar în cele din urmă redat oxigenului molecular cu formarea ionului O^{2-} (v. tab. 10—1).

Sistemul enzimatic al respirației celulare animale care reduce în mod efectiv oxigenul molecular este citocrom-oxidaza. Această enzimă este prezentă în membrana internă a mitocondriilor și permite oxidarea de către oxigenul molecular a citocromului *c* redus. Sistemul care transportă electronii proveniți de la hidrogen poate fi redat schematic astfel:

Tabelul 10—1

Potențialul redox al sistemelor de oxidoreducere participante la oxidarea terminală

Sistem redox (Forma oxidată/forma redusă)	Potențial redox, E_0 (volți)
$NAD^+/NADH$	−0,32
$FAD/FADH_2$	−0,05
Citocrom *b* Fe^{3+}/Fe^{2+}	−0,04
Coenzimă Q ox/CoQ red.	+0,122
Citocrom c_1 Fe^{3+}/Fe^{2+}	+0,26
Citocrom *a* Fe^{3+}/Fe^{2+}	+0,29
Citocrom a_3 Fe^{3+}/Fe^{2+}	+0,55
O_2/O^{2-}	+0,81



Citocromul a_3 este ușor autoxidabil și de aceea el poate transmite electronii direct oxigenului molecular.

Importanța biologică a unei astfel de catene de sisteme redox reiese din posibilitatea cuplării fiecărei etape cu alte reacții. Astfel, multă din energia liberă de formare a apei este conservată sub formă de energie chimică și nu este risipită sub formă de căldură. Transportorul energiei chimice este ATP. Acest fapt denotă că oxidarea terminală este cuplată cu oxidarea fosforilantă.

Oxidarea fosforilantă. Oxidarea fosforilantă este procesul prin care energia eliberată prin oxidarea NADH este utilizată pentru fosforilarea ADP în ATP, prin utilizarea de fosfat anorganic, după reacția:

$$2\ NADH + 1/2\ O_2 + 3\ ADP + 3\ H_3PO_4 \rightarrow 2\ NAD^+ + 4\ H_2O + 3\ ATP$$

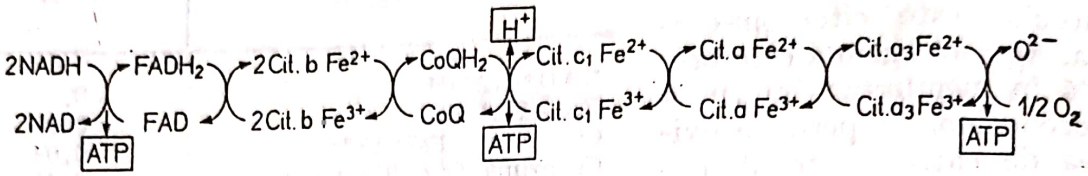
Acest proces este un sistem multienzimatic complex, localizat în membrana internă a mitocondriilor. Oxidarea fosforilantă ocupă în economia celulei o poziție importantă, la nivelul căreia au loc diferitele etape (trei etape mai importante) de transformare a energiei în lumea vie. În plante, în procesul de fotosinteză, în urma captării energiei solare de către cloroplaste, această energie este convertită în energie chimică sub formă de ATP. La animale, în procesul respirației celulare în cursul căreia glucidele și alți compuși sînt oxidați la CO_2 și H_2O în organite specializate (mitocondrii), energia pusă în libertate în aceste oxidoreduceri este utilizată pentru sinteza de ATP. O a treia etapă mare este utilizată ATP pentru necesitățile diverselor activități de menținere a celulei vii, și anume: lucru mecanic, sinteză chimică etc.

Sinteza de ATP în mitocondrii reprezintă calea principală de conversie chimică a energiei din catena respiratorie. O altă posibilitate de conversie chimică constă în reacții de reducere de natură endergonică.

Experiențele efectuate au confirmat faptul că paralel cu oxidarea unei molecule de NADH se consumă un atom de oxigen și se formează trei molecule de ATP. Raportul dintre fosfatul legat sub formă de ATP și oxigenul consumat

Scanned with OKEN Scanner

este deci de 3:1. Cercetările recente asupra stabilirii etapelor de cuplare ale oxidării terminale cu cele de fosforilare au dus la concluzia că una din etapele oxidării terminale în care se face cuplarea cu fosforilarea o constituie transferul hidrogenului de la NADH la FAD. Celelalte etape sînt la nivelul $CoQH_2$/cit. c_1Fe^{3+} și la cit. a_3Fe^{2+}/oxigen, după cum rezultă din următoarea schemă:



Din această schemă reiese mai clar faptul că 1 mol ATP poate lua naștere la fiecare pereche de electroni sau hidrogen transferați la fiecare din cele trei locuri, dintre NADH/FAD, $CoQH_2$/cit. c_1Fe^{3+} și cit. a_3 Fe^{2+}/oxigen.

Cuplarea fosforilării cu oxidarea terminală se face prin intermediul anumitor substanțe de cuplare, dintre care au fost izolate trei, dar încă nu li s-a stabilit complet structura chimică. Aceste substanțe intermediare nefosforilate transferă energia pe molecule de ADP și se formează ATP:

$$AH_2 \text{ (donor de H)} + B\text{(acceptor de H)} + I \rightleftharpoons A \sim I + BH_2$$

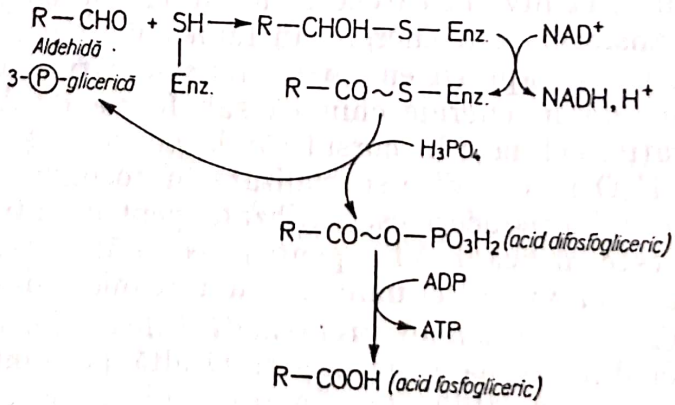
$$A \sim I + X \rightleftharpoons X \sim I + A$$

$$X \sim I + Ⓟ \rightleftharpoons Ⓟ \sim I + X$$

$$Ⓟ \sim I + ADP \rightleftharpoons ATP + I$$

Prin seria celor patru reacții se poate explica energia degajată în cursul oxidării transportului redus AH_2 de către un transportor oxidat B. Prima reacție comportă conservarea energiei de oxidoreducere prin crearea unui derivat macroergic format la nivelul unor transportori din catena respiratorie implicați în reacția de oxidoreducere. Astfel, AH_2 este oxidat de B în prezența unui compus mitocondrial I pentru formarea A ~ I. Celelalte reacții sînt de transfer de energie, derivații macroergici se formează în mod succesiv: $X \sim I$, $Ⓟ \sim I$, ATP.

Formarea noii legături macroergice din ADP și Ⓟ în oxidarea fosforilantă este demonstrată prin convertirea aldehidei fosfogliceric în acid fosfogliceric:



Aceste reacții au loc în procesul de gluconeogeneză.

Oxidarea celulară și fosforilarea sînt în strînsă corelație, dar ele se pot desfășura și independent, în funcție de acțiunea factorilor care pot provoca

cuplarea sau decuplarea. Decuplarea inițiază oxidarea liberă (nefosforilantă), proces ce constă într-un transfer liber de electroni și o inhibare a formării de ATP.

Eficacitatea cu care se realizează fosforilarea la nivelul oxidării terminale se măsoară raportînd numărul de molecule ATP formate la un atom de oxigen consumat: P/O. Acest raport are valoarea 3 la dehidrogenarea substratelor de către NAD^+; valoarea 2 în cazul dehidrogenării cu FAD și 1 în cazul oxidării

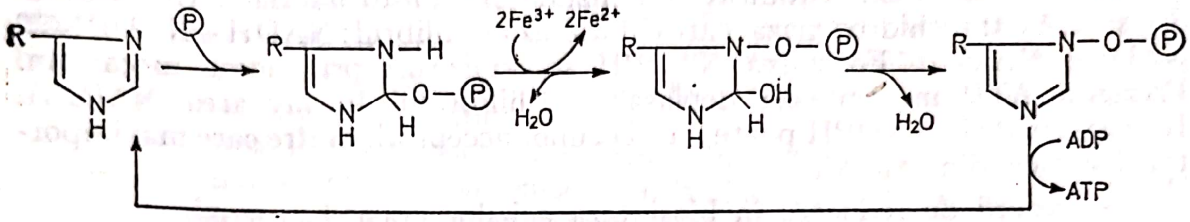


Fig. 10.1. Activarea fosfatului anorganic în cuplarea fosforilării cu oxidarea terminală.

citocromului *c*. Reiese deci faptul că valoarea maximă de ATP format în cuplarea oxidării biologice cu fosforilarea la nivelul catenei terminale este de 3 moli de ATP. În cazul unor leziuni a țesuturilor acest proces este inhibat.

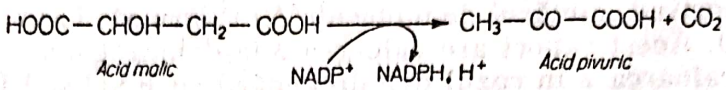
Referitor la modul de cuplare a fosforilării cu transferul de electroni în oxidarea terminală a respirației celulare se consideră că fosfatul anorganic este legat de ciclul imidazolic al unui rest de histidină din molecula transelectronazei cu rol în etapa respectivă a oxidării terminale. În continuare, complexul suferă o serie de transformări după care restul Ⓟ este cedat moleculei de ADP (fig. 10.1).

Respirația este independentă de cantitatea de oxigen adusă în sînge, în condiții normale. S-a constatat însă că are loc o intensificare a respirației în urma adăugării fosfatului anorganic, a ADP și a uneia dintre substanțele participante în ciclul ATC. În condiții normale, cînd legătura dintre procesele de oxidare și cele de fosforilare nu este jenată, principalul regulator al intensității respirației îl constituie starea rezervei energetice create prin acest proces. Astfel, dacă în urma efortului fizic, concentrația în ATP înmagazinat în mușchi se micșorează, iar concentrația în ADP și fosfat anorganic crește, atunci respirația se intensifică. Reiese deci faptul că respirația este guvernată de un sistem de autoreglare analog cu cel al glicolizei. Totodată, procesele respiratorii în totalitatea lor sînt induse pe cale hormonală, îndeosebi de către hormonii tiroidieni ioduraţi (tiroxină). Intensificarea respirației mitocondriale de către tiroxină se explică prin inducția de către hormon a enzimelor implicate în acest proces, cum sînt, de exemplu, succinat-dehidrogenaza și citocrom-oxidazele.

Alte catene de oxidare celulară. Există și alte catene de oxidare celulare pe lîngă cea a NADH-oxidazei mitocondriale. Astfel, se cunoaște catena de oxidare care trece prin $NADP^+$, dar care este mult mai puțin activă, așa încît marea parte a acestui transportor se găsește în mod normal sub formă redusă în celulă (NADPH), contrar NAD^+ care se află mai ales sub formă oxidată. Rolul NADPH este foarte diferit de al NADH. Astfel, lui i se atribuie o importanță foarte mare în reacțiile acceptoare de hidrogen, cum sînt în cazul oxidării glucozo-6-fosfat în fosfo-6-gluconat de către glucozo-6-fosfat-dehidrogenază și a oxidării fosfo-6-gluconat în ribulozo-5-fosfat de către

Scanned with OKEN Scanner

fosfo-6-gluconat-dehidrogenază. Două alte reacții generatoare de NADPH și anume: decarboxilarea oxidativă a acidului izocitric și, mai ales, decarboxilarea oxidativă a acidului malic la acid piruvic.



Aceste reacții sînt catalizate de enzime extramitocondriale. În mitocondrii se află o transhidrogenază, care catalizează echilibrul: $NADH + NADP^+ \rightleftharpoons NAD^+ + NADPH$. Formarea NADPH se realizează prin acest mecanism. Prezența ATP influențează deplasarea echilibrului în favoarea NADPH. Hidrogenul de la NADPH poate fi cedat unor acceptori, dintre care mai importanți sînt cei din reacțiile:

— reacții de reducere în biosinteza acizilor grași;

— reducerea glutationatului oxidat, a substanțelor epoxidate și a radicalilor liberi formați sub acțiunea oxigenului;

— reducerea acidului fosfogliceric;

— reducerea dihidropteridinelor, oxidarea fenilalaninei, biosinteza bazelor pirimidinice.

Hidrogenul din NADPH este utilizat, de asemenea, la reacțiile de hidroxilare în metabolismul glucidelor (ω-oxidare) și steroidelor (biosinteza colesterolului). În aceste cazuri, NADPH este generatorul de electroni pentru o catenă foarte importantă, prezentă mai ales în reticulul endoplasmatic al celulelor hepatice și, de asemenea, în reticulul și mitocondriile altor organe (corticosuprarenale, glandele genitale etc.) ajungînd la citocrom P_{450}, care este un constituent al numeroase hidroxilaze (fig. 10.2).

Toate aceste reacții care permit oxidarea hidrogenului din NADPH sînt deci ocazionale și ele nu însoțesc formarea ATP. Totuși, se poate întîmpla ca, grație unei duble reacții de reducere, cu consumarea unui mol de NADPH și

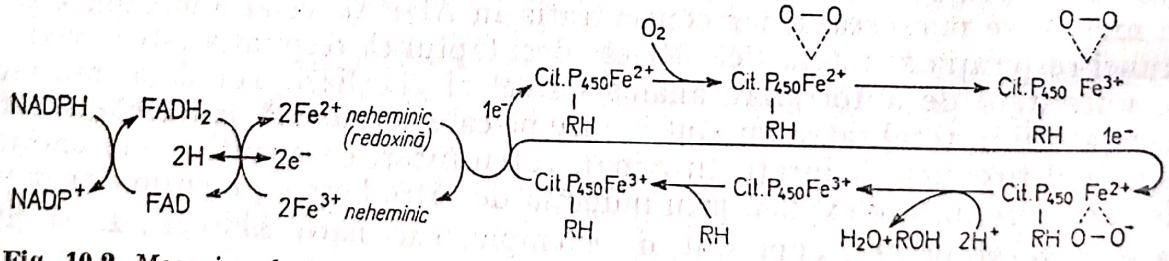


Fig. 10.2. Mecanismul altor căi ale oxidării terminale cu NADH ce are loc în reticulul endoplasmatic.

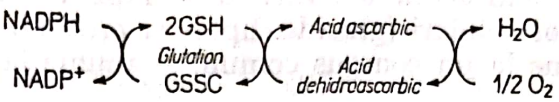
de oxidare, utilizînd NAD^+, hidrogenii de la NADPH să poată intra direct în catena respiratorie, după cum reiese din exemplele următoare:

$$\begin{cases} \alpha\text{-cetoglutarat} + NH_4^+ + NADPH \rightarrow NADP^+ + \text{glutamat} + H_2O \\ \text{glutamat} + H_2O + NAD^+ \rightarrow NADH + \alpha\text{-cetoglutarat} + NH_4^+ \end{cases}$$

$$\begin{cases} \text{glucoză} + NADPH + H^+ \rightarrow \text{sorbitol} + NADP^+ \\ \text{sorbitol} + NAD^+ \rightarrow \text{fructoză} + NADH + H^+ \end{cases}$$

Scanned with OKEN Scanner

O parte din calea mitocondrială a oxidării celulare se regăsește în diferite căi de transport de hidrogen, cum este, de exemplu, calea acidului ascorbic:

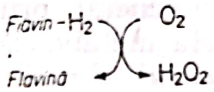


O astfel de cale se găsește în celulele animale care dispun de sisteme enzimatice, exclusiv însă de ascorbat-oxidază.

— *Diferite oxidări cu oxigen și ion superoxidic* (—O—O·). Oxigenul intervine și în alte reacții de oxidare de mică importanță cantitativă, dar rolul lor biologic poate fi foarte mare. Printre reacțiile de fixare de oxigen pe un substrat, cele mai importante sînt:

— oxidarea monofenolilor la difenoli (în procesul de melanogeneză);
— oxidarea scualenului la oxi-scualen (în biosinteza sterolilor);
— oxidarea ciclurilor aromatice (în catabolismul acidului homogentizic, a triptofanului, a acidului hidroxiantranilic).

Apa oxigenată constituie deopotrivă un metabolit ocazional. Ea poate lua naștere prin două tipuri de reacții. Primul tip este furnizat prin enzimele flavinice (aminoacidoxidază):



Al doilea tip este rezultatul dismutației ionului superoxidic $O_2^{\cdot-}$, produs el însuși prin fixarea unui electron pe oxigenul molecular:

$O_2 + 1\ e^- \rightarrow O_2^{\cdot-}$ (reacția are loc la producerea formelor semichinonice ale flavinelor)

$$2\ H^+ + 2\ O_2^{\cdot-} \xrightarrow[\text{dismutază}]{\text{superoxid-}} H_2O_2 + O_2$$

Superoxid-dismutaza este o enzimă cu cupru care se află în numeroase țesuturi animale, ca de exemplu în hematii. Această enzimă inhibă efectele ionului superoxidic, care poate juca un rol fie în transferul de electroni pe citocromi, fie în oxidarea substraturilor de tipul porfirinelor sau catecolaminelor.

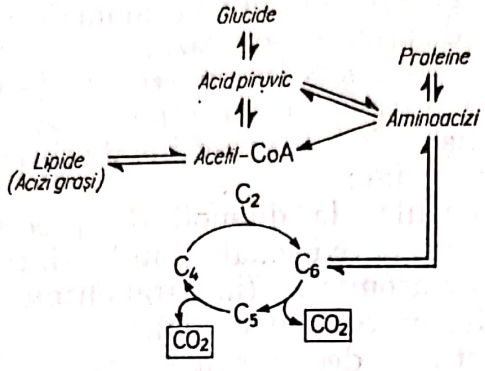
Apa oxigenată astfel formată este nocivă în celule pentru numeroase substraturi oxidabile. Ea este repede descompusă în toate țesuturile de către catalaze și peroxidaze. Printre acestea, glutation-peroxidaza se pare că joacă un rol protector important împotriva oxidării de către H_2O_2 a hemoglobinei și a acidului ascorbic. Glutation-peroxidaza este o enzimă ce conține fier și seleniu. O carență în seleniu la șobolan determină o diminuare a activității peroxidazice și tulburări comparabile la carența în tocoferoli, al căror rol protector împotriva peroxidărilor este cunoscut. Rolul tocoferolilor constă, aici, în menținerea seleniului sub formă redusă, de selenură.

10.3. CICLUL KREBS

În partea precedentă s-a arătat că produșii finali ai metabolismului aerob sînt H_2O și CO_2. Dioxidul de carbon ia naștere atît prin decarboxilarea β-cetoacizilor, cît și prin decarboxilarea oxidativă a α-cetoacizilor. Diferitele sub-

Scanned with OKEN Scanner

stanțe componente ale alimentației animalelor pot fi degradate după cele două reacții generale. Aproape toate organismele degradează compușii organici pe aceeași cale, pînă la acid acetic activat. Acest fapt denotă că cea mai mare parte a constituenților celulari (glucide, lipide și protide) suferă în celula vie transformări, care duc la un compus comun, și anume la acid acetic activat sau acetil-CoA.



Acetil-CoA, respectiv ciclul ATC, a fost descoperit în același timp de către H. A. Krebs și de Martius și Knoop și este un compus care participă la un proces extrem de general, prin care restul acetil este oxidat în toate celulele vii. Calea aceasta metabolică, la care participă acetil-CoA, este cunoscută sub numele de *ciclul acizilor tricarboxilici* (*ciclul ATC*) sau *ciclul acidului citric* sau *ciclul Krebs*. Ea întrunește cea mai mare parte a reacțiilor de oxidare care au loc în celula vie. Acest ciclu poate fi confundat, la prima vedere, cu respirația celulară, întrucît are loc în condiții aerobe. Enzimele implicate în proces se găsesc în mitocondrii.

Principala caracteristică a ciclului ATC este aceea că necesită un compus esențial, care intră în ciclu și se regăsește la sfîrșitul ciclului, inițiind un nou ciclu. Acest compus este acidul oxalil-acetic. El fixează o moleculă de acid acetic activat și dă naștere la compuși cu șase atomi de carbon, care printr-o succesiune de reacții de oxidare pierd doi atomi de carbon, sub formă de CO_2 și regenerează o nouă moleculă de acid oxalilacetic.

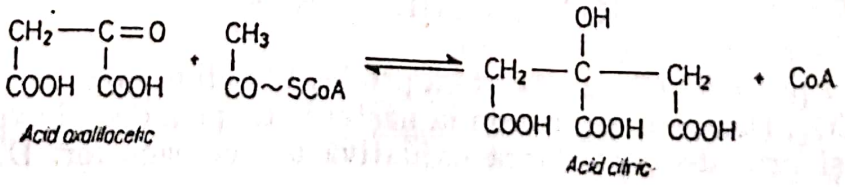
Reacția globală de degradare a acetil-CoA poate fi redată astfel:

$$CH_3 - CO \sim SCoA + 3\,H_2O \rightarrow 2\,CO_2 + 8\,[H] + CoA\text{-}SH$$

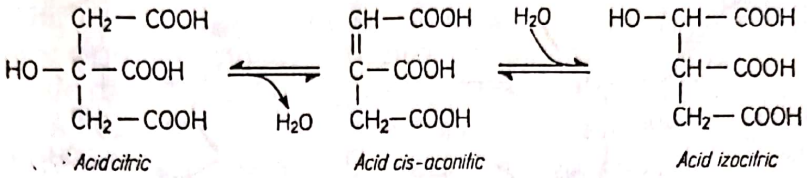
Așa cum rezultă din această ecuație, oxigenul nu ia parte la oxidare; apa este cea care intră în reacție, care este dehidrogenată în diferite etape. Hidrogenul este luat de coenzime și transportat să reacționeze cu oxigenul în catena respiratorie.

Etapele ciclului ATC. În cadrul ciclului ATC vor fi prezentate etapele individualizate, în primul rînd cele care prezintă importanță energetică și metabolică.

— *Condensarea acetil-CoA cu oxalilacetat.* Etapa care inițiază ciclul ATC este condensarea acidului oxalilacetic cu acetil-CoA, printr-o reacție de aldolizare, în prezența citrat-sintetazei, cu formare de acid citric:

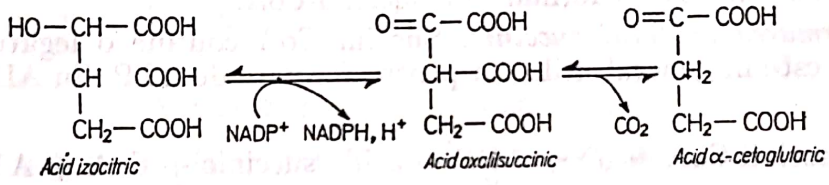


— *Izomerizarea acidului citric.* Seriile de transformări ale acidului citric încep cu izomerizarea lui la acid izocitric, în prezența aconitazei.



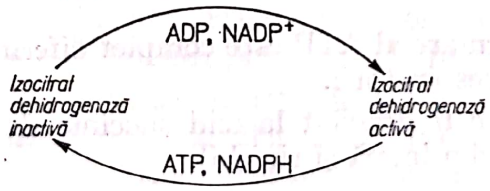
Echilibrul reacției este atins la 89% acid citric, 3% acid cisaconitic și 8% acid izocitric. Cei trei compuși sînt tricarboxilici, de unde provine denumirea ciclului „tricarboxilic". Aconitaza este o enzimă strict stereospecifică.

— *Oxidarea acidului izocitric.* Prin oxidarea acidului izocitric, în prezența izocitrat dehidrogenazei cu $NADP^+$ din mitocondrii, are loc transformarea grupei HO secundare în grupare cetonică și formarea acidului oxalilsuccinic, care este decarboxilat la acid α-cetoglutaric:



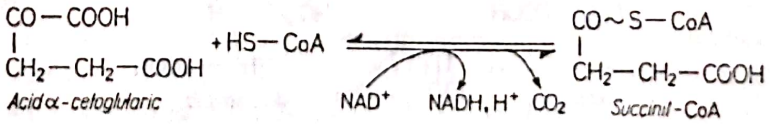
Această reacție nu este complet ireversibilă.

Enzima izocitrat dehidrogenaza este o enzimă allosterică pentru care ADP este un activator specific. ATP și $NADP^+$ sînt modulatori allosterici specifici negativi ai enzimei. Echilibrul între formele active și inactive ale enzimei depind de concentrațiile în ATP, ADP, $NADP^+$ și NADPH.



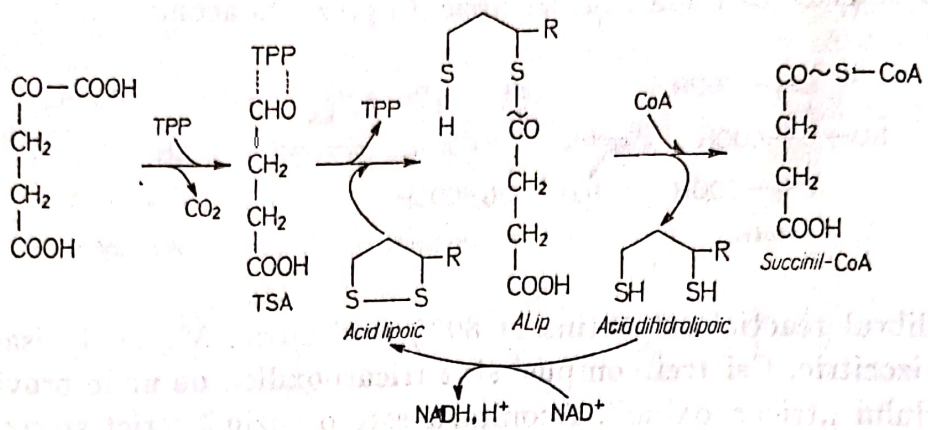
NADPH transferă hidrogenul preluat catenei respiratorii.

— *Decarboxilarea oxidativă a acidului α-cetoglutaric.* Decarboxilarea acidului α-cetoglutaric la acid succinic este realizată de un sistem enzimatic complex: α-cetoglutarat decarboxilază cu TPP, acid lipoic, NAD^+ și coenzimă A. Reacția globală se poate scrie astfel:



Scanned with OKEN Scanner

Mecanismul transferării restului succinil poate fi schematizat astfel:



Enzima α-cetoglutarat decarboxilaza conține tiaminpirofosfat (TPP) ca grupare prostetică, determină decarboxilarea acidului α-cetoglutaric și produce tiamin succinat-semialdehidă (TSA). Acest intermediar reacționează cu acidul lipoic dînd naștere la S-acil-dihidrolipoat (ALip), care este un compus macroergic, cu un potențial energetic ridicat, putînd transfera restul acil pe molecula coenzimei A cu formare de succinil-CoA.

— *Formarea acidului succinic.* Succinil-CoA conține o legătură macroergică care este în general utilizată pentru formare de ATP din ADP și fosfat anorganic:

$$\text{succinil-CoA} + Ⓟ + \text{ADP} \rightarrow \text{acid succinic} + \text{CoA} + \text{ATP}$$

În prezența succinil-CoA-sintetazei, care catalizează reacția de transferare a legăturii macroergice în GTP, enzima trece într-o formă fosforilată:

$$\text{succinil-CoA} + Ⓟ + \text{GDP} \rightarrow \text{acid succinic} + \text{GTP}$$

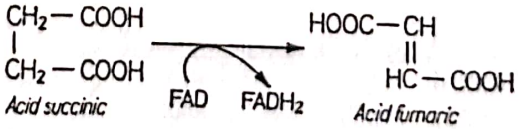
GTP format poate fi utilizat în cursul sintezei proteinelor și porfirinelor, dar mai ales în reacția:

$$\text{GTP} + \text{ADP} \rightleftharpoons \text{GDP} + \text{ATP}$$

Mecanismul de formare al ATP este complet diferit de cel din fosforilările oxidative ale catenei respiratorii.

Succinil-CoA poate fi deacilat la acid succinic de către o succinil-CoA-sintetază (mitocondrii din inimă și rinichi).

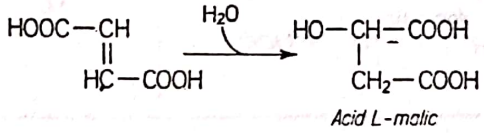
— *Oxidarea acidului succinic.* Acidul succinic este dehidrogenat în prezența succinat dehidrogenazei (o flavoproteidă cu patru atomi de fier neheminic, participantă în oxidarea terminală), la acid fumaric.



Scanned with OKEN Scanner

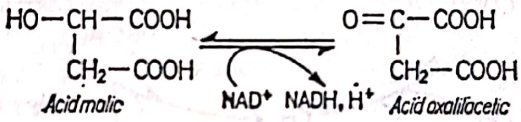
Succinat dehidrogenaza este inhibată de către acidul malonic. Acest acid blochează respirația celulară și cauzează o acumulare de acid succinic. Enzima succinat dehidrogenaza se comportă ca o enzimă allosterică, activată de acid succinic și de acid fumaric, este inhibată competitiv de acid oxalic, oxalilacetic și pirofosfat. Toate aceste substrate conțin două grupe anionice care pot fi legate de două grupări cationice ale locului catalitic. Pe plan fiziologic, inhibarea de către acidul oxalilacetic, care este ultimul acid dicarboxilic format în ciclul ATC, este deosebit de important, întrucît acumularea acidului oxalilacetic poate inhiba propria sa formare din acid succinic.

— *Hidratarea acidului fumaric.* Adiția de apă la dubla legătură C = C din acidul fumaric, în prezența fumarazei, enzimă apropiată cu aconitaza, duce la formarea acidului L-malic:



Acid L-malic

— *Oxidarea acidului malic.* Acidul malic este oxidat, în prezența malat-dehidrogenazei cu NAD^+, la acid oxalilacetic:



Acid malic *Acid oxaliloacetic*

Echilibrul acestei reacții este puternic deplasat în favoarea acidului malic, întrucît reacția este endergonică. Din acest motiv, acidul oxalilacetic este prezent în țesuturi numai în concentrații foarte mici. Dar, deoarece acidul oxalilacetic și NADH sînt repede utilizate în reacții metabolice importante, echilibrul este deplasat spre dreapta.

Acidul oxalilacetic este ultimul produs al ciclului ATC, el închide ciclul dar el poate reintra în ciclu prin condensarea cu o nouă moleculă de acetil-CoA. Principalii intermediari ai ciclului sînt prezentați în figura 10.3.

— *Localizarea ciclului ATC.* Realizarea integrală a ciclului ATC are loc numai în mitocondrii, întrucît numai aici există întregul echipament enzimatic necesar desfășurării lui. Unele dintre aceste enzime se găsesc și în microzomi, dar microzomii nu conțin deloc succinat dehidrogenază. Totodată, circulația formelor reduse și oxidate ale coenzimelor NAD^+ și $NADP^+$ între plasma celulară și mitocondrii se realizează ușor datorită permeabilității membranei celulare care separă cele două formațiuni celulare. Prezența acizilor carboxilici implicați în ciclul ATC în diferite țesuturi este de aproximativ 10—20 mg % și se află în toate țesuturile.

— *Reglarea ciclului ATC.* În condiții fiziologice normale ciclul ATC se află într-un echilibru dinamic ca și catena respiratorie. Punctul principal al reglării constă în proprietățile allosterice ale izocitrat dehidrogenazei. ADP este activator allosteric, iar ATP și NADH inhibă enzima. Enzima citrat-sintetaza este, de asemenea, cu rol de control allosteric.

Scanned with OKEN Scanner

Bilanțul ciclului ATC. Bilanțul ciclului ATC este oxidarea completă a restului acetil. Prin două reacții de decarboxilare sînt eliminați atomii de carbon sub formă de CO_2 și prin patru reacții de oxidare sînt transformați

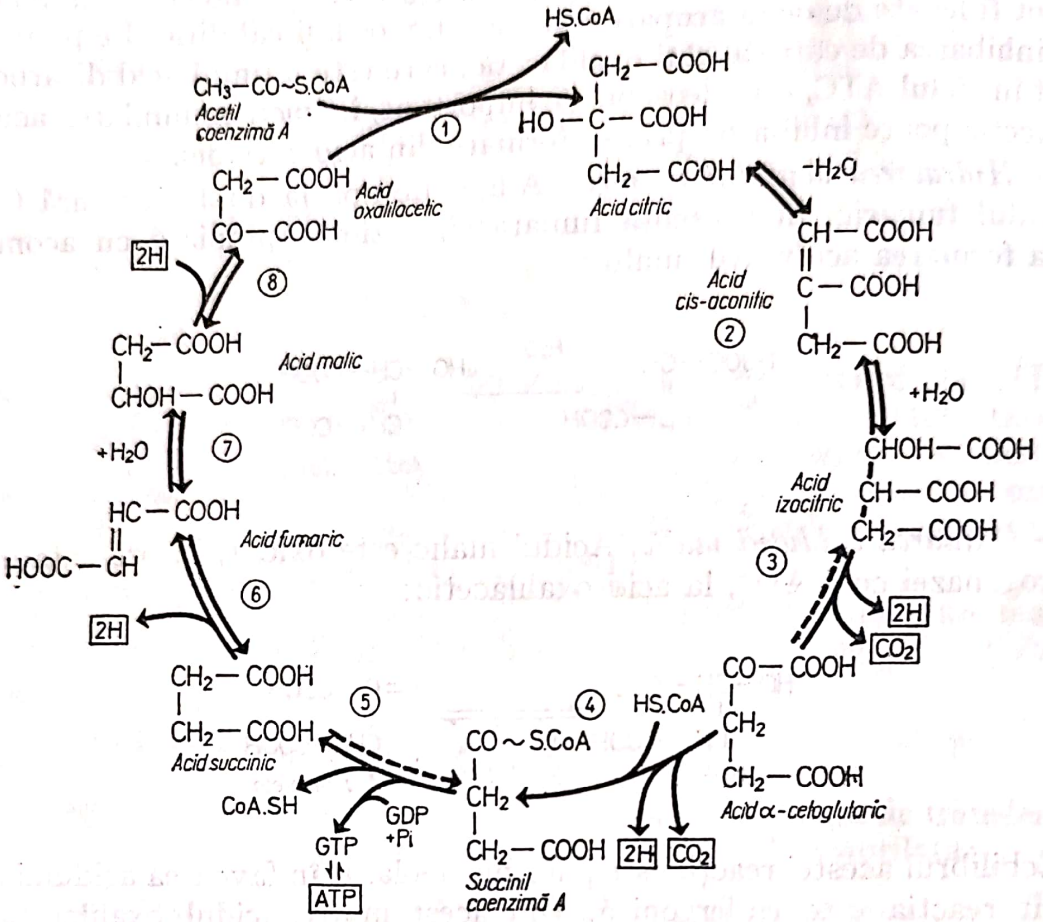
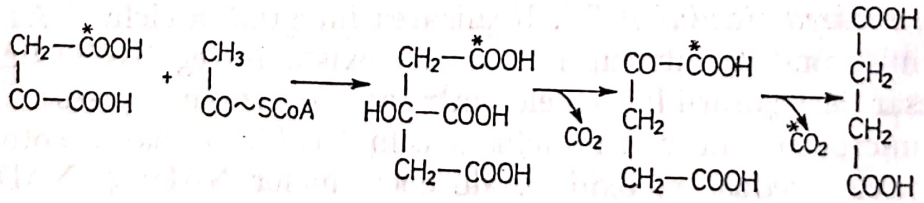


Fig. 10.3. Etapele ciclului ATC.

opt atomi de hidrogen în apă. Atomii de carbon din acetil-CoA în ciclul ATC nu sînt transformați în CO_2 în primele reacții, ci CO_2 provine din decarboxilarea acidului oxalilacetic, după cum rezultă din următoarele etape:



Hidrogenul preluat de dehidrogenaze este transportat pînă la oxigen pe calea oxidării fosforilante.

Cetoacizii rezultați, ca produși intermediari, pot fi utilizați de către organismele vii și ca precursori în biosinteza aminoacizilor.

— *Bilanțul energetic al ciclului ATC.* Ciclul ATC constituie o sursă predominant energetică pentru organism. Organismul utilizează această energie în parte pentru căldură (la menținerea temperaturii corpului) și în parte ca energie chimică în formarea de ATP cîștigată prin fosforilarea oxidativă.

Scanned with OKEN Scanner

Rezultatul energetic, sub formă de ATP, substratele și transportorii pot fi redate astfel:

Substrat	Transportor	ATP rezultat
Izocitrat ↓ Cetoglutarat	$NADPH, H^+$	3
↓ Succinil-CoA	$NADH, H^+$	3
↓ Succinat	~SCoA→GTP→ATP	1
↓ Fumarat	$FADH_2$	2
↓ Malat		
↓ Oxalilacetat	$NADH, H^+$	3

Total = 12 moli ATP

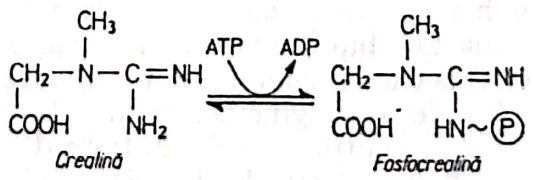
Un mol de NADH este echivalent cu 3 moli ATP, iar un mol de $FADH_2$ este echivalent cu 2 moli ATP.

În condiții normale energia produsă de ciclul ATC corespunde la o cantitate totală de $12 \times 8 = 96$ kcal/mol de acetat activat sau o eficiență de aproximativ 40% din cantitatea de energie eliberată în mod teoretic posibil. În general, depozitarea energiei sub formă de ATP este probabil mai importantă pentru organism decît pentru căldura produsă în mod incidental. Acest fapt denotă că oxidarea substraturilor ciclului ATC sînt principalele reacții generatoare de ATP în metabolismul intermediar. Mai mult, ciclul ATC realizează oxidarea aerobă a acetil-CoA din metabolismul glucidelor, lipidelor și proteidelor.

— *Depozitul de energie.* ATP se sintetizează în mitocondrii și se degradează mai ales în citoplasmă. În organismele animale, ATP este utilizat mai ales pentru funcționarea sistemului muscular. În mușchi se află o rezervă de legături macroergice sub formă de creatin-fosfat:

$$\text{ATP} + \text{creatină} \rightleftharpoons \text{Creatin-fosfat} + \text{ADP}$$

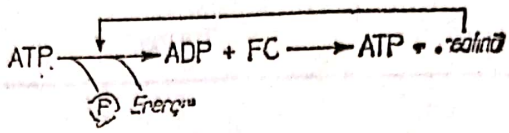
Creatin-kinaza acționează reversibil și permite resinteza creatinfosfatului în faza de repaus muscular.



Fosfocreatina depozitată în mușchi asigură energia necesară travaliului muscular. Pentru contracția musculară, energia este furnizată nemijlocit de scindarea bruscă de ATP la ADP și fosfat, iar energia eliberată

Scanned with OKEN Scanner

este transformată direct în lucru mecanic. ATP consumat este regenerat prin refosforilarea ADP de către fosfocreatină (FC), într-un proces ciclic:



10.4. METABOLISMUL GLUCIDELOR

Pentru organismul animal, glucidele reprezintă peste 50% din substanțele catabolizate pentru asigurarea energiei necesare proceselor vitale. Animalele fiind organisme heterotrofe sînt obligate să-și procure glucide din hrană, în cazul cînd aceasta nu conține cantități suficiente, ele și le procură prin convertirea în glucide a altor substanțe, îndeosebi prin metabolizarea lipidelor și a proteidelor. Întrucît în alimentație glucidele se află în cea mai mare parte ca ozide, organismele animale trebuie să le transforme în compuși care pot fi absorbiți. Din acest motiv, înainte de a prezenta metabolismul intermediar al glucidelor vor fi descrise succint principalele transformări pe care le suferă glucidele în aparatul gastrointestinal.

10.4.1. MECANISMUL DIGESTIEI, ABSORBȚIEI, VEHICULĂRII ȘI DEPOZITĂRII GLUCIDELOR

În aparatul gastrointestinal glucidele alimentare suferă numeroase transformări biofizice și biochimice. Aceste transformări sînt indispensabile pentru organism, cu atît mai mult cu cît hrana vegetală este constituită în primul rînd din poliglucide, cum sînt amidonul și celuloza și în cantitate mică oligoglucide și monoglucide. Glucidele preluate din hrană nu pot fi absorbite prin mucoasa aparatului gastrointestinal, decît numai sub formă de monoglucide. Scindarea hidrolitică a poliglucidelor este catalizată enzimatic.

Digestia. În contact cu aparatul gastrointestinal și cu secrețiile produse de acesta, produsele alimentare sânt scindate hidrolitic în substanțe cu structură mai simplă. Digestia ozidelor este diferită la erbivore față de omnivore, precum și la animalele monogastrice, de cele rumegătoare și la păsări. Totodată, biochimia substanțelor ce pătrund în aparatul gastrointestinal este diferită pe parcursul acestuia (în cavitatea bucală, în stomac, în intestin).

Digestia glucidelor la animale monogastrice. În cavitatea bucală a animalelor monogastrice hrana suferă cu precădere transformări mecanice și biofizice și în mică măsură biochimice. Aici este doar parțial hidrolizat amidonul, ca urmare a acțiunii α-amilazelor salivare, rezultînd dextrine și cantități foarte mici de monoglucide. Produsele alimentare trecute în stomac, îndeosebi amidonul, continuă să fie hidrolizat. În acest fel, noi cantități de poliglucide sînt hidrolizate la dextrine. Oligoglucidele, precum și celuloza nu sînt digerate nici în stomac. În intestinul subțire amidonul și glicogenul, precum și oligoglucidele suferă o transformare hidrolitică completă pînă la faza de monoglucide. Celuloza este transformată de-abia în intestinul gros, ca urmare a unor procese complexe realizate de către microorganisme.

Scanned with OKEN Scanner

Celuloza este parțial transformată în glucoză, iar aceasta din urmă, prin fermentație aerobă în acizi inferiori (butiric, propionic, lactic, acetic) și în unele substanțe gazoase (H_2, CO_2). Valorificarea celulozei la erbivore este de 90%.

Digestia glucidelor la animale rumegătoare. Spre deosebire de animalele monogastrice, rumegătoarele au stomacul format din patru compartimente: trei prestomace (rumen, rețea și foios) și stomacul propriu-zis. Prestomacele sînt sediul a numeroase transformări biochimice. Prestomacele nu secretă enzime proprii, astfel că transformările sînt produse sub influența microorganismelor, care se dezvoltă și trăiesc aici. Microorganismele sînt reprezentate de bacterii și protozoare. Sub acțiunea microcrganismelor toate ozidele, chiar și celuloza, pot fi transformate prin hidroliză în monoglucide. La rîndul lor, monoglucidele sînt metabolizate de aceste microorganisme.

Digestia glucidelor la păsări. Întrucît aparatul gastrointestinal al păsărilor este diferit de cel al mamiferelor, transformările biochimice ale glucidelor vor decurge în mod diferit. În cavitatea bucală a păsărilor hrana rămîne un timp foarte scurt, iar saliva lor este lipsită de enzime, de aceea nu au loc transformări chimice. Aceste transformări se petrec doar în mică măsură în gușă și practic sînt neînsemnate; de asemenea sînt reduse și în stomace. Transformările biochimice ale glucidelor au loc mai intens în intestine. În intestinul subțire se produc transformări biochimice analoge cu cele de la mamifere, îndeosebi produse de α-amilaze, care sînt continuate apoi în intestinul gros.

Absorbția. Absorbția, respectiv preluarea substanțelor din aparatul digestiv, se realizează prin *absorbția enterală*. Preponderentă este absorbția intestinală și în mică măsură cea gastrică. Singura formă de absorbție a glucidelor în organism este aceea a monoglucidelor. Doar zaharoza adusă în cantitate mare cu alimentația poate fi absorbită în cantitate mică ca atare și apoi eliminată ca o substanță străină, fără a fi catabolizată.

Absorbția monoglucidelor depinde de o serie de factori, cum sînt: natura monoglucidului, regiunea din intestin și starea sa funcțională, prezența hormonilor și vitaminelor etc. Viteza de absorbție a monoglucidelor prin peretele intestinal depinde de natura monoglucidului și de evoluția alimentară și necesitățile fiziologice. Notînd cu 100 viteza de absorbție a glucozei, vitezele relative de absorbție ale diferitelor monoglucide sînt:

Glucoză	100	Fructoză	43	Xiloză	15
Galactoză	110	Manoză	19	Arabinoză	9

Rezultă deci faptul că hexozele sînt absorbite cu viteze mai mari decît pentozele; pentozele avînd aceleași viteze de absorbție ca și substanțele minerale. Viteza de absorbție a unei monoglucide este modificată de prezența altei glucide.

În absorbția monoglucidelor sînt implicate două mecanisme:

— un mecanism de difuziune, care depinde de presiunea osmotică, dar în primul rînd de diferențele de concentrație a monoglucidului între lumenul intestinal, mucoasa intestinală și plasma sanguină;

— un mecanism biochimic, care implică un proces de fosforilare a monoglucidului și care intervine în absorbția hexozelor prin transformarea lor în hexozo-6-fosfat:

$$\left.\begin{matrix}\text{Glucoză}\\ \text{Fructoză}\\ \text{Galactoză}\end{matrix}\right\} + \text{ATP} \rightarrow \left.\begin{matrix}\text{Glucozo-}\\ \text{Fructozo-}\\ \text{Galactozo-}\end{matrix}\right\} \text{-6-fosfat} + \text{ADP}$$

Scanned with OKEN Scanner

Fosforilarea are loc în mucoasa intestinală, sub acțiunea hexokinazei, fiind reglată de hormonii corticosuprarenali și stimulată de vitaminele din complexul vitaminic B. Astfel, absorbția hexozelor depinde de ușurința cu care aceste monoglucide pot forma esteri fosforici. După intrarea lor în circuitul portal, ele sînt defosforilate și ajung în ficat sub formă liberă.

Pentozele se absorb printr-un mecanism de difuzie simplă, în funcție de concentrația ozelor din lumenul intestinal, mucoasa intestinală și plasma sanguină.

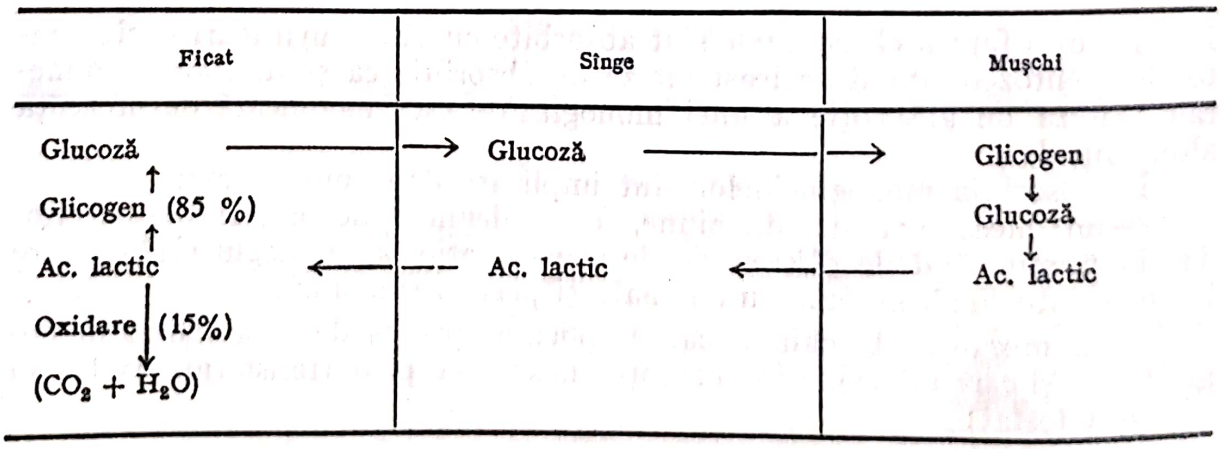
Vehicularea și depozitarea. După absorbție, monoglucidele sînt vehiculate sub formă liberă pe cale sanguină, de unde pot ajunge în toate țesuturile și organele. Forma vehiculantă a monoglucidelor este glucoza sanguină, iar forma de depozitare este glicogenul. Glucoza absorbită este dusă la ficat, iar la ieșirea din ficat sîngele are totdeauna un conținut relativ constant de glucoză la organisme sănătoase, dar variază în funcție de specia animală. În general, valoarea glucozei în sînge este cuprinsă între 0,06 și 0,1% (în jur de 100 mg/100 ml sînge).

Atît glucoza, cît și celelalte monoglucide aduse prin vena portă sînt captate de ficat și transformate în glicogen. Mai întîi diferitele monoglucide sînt transformate în glucoză. De aici rezultă faptul că ficatul are un rol de bază ca organ de tranzit al glucidelor alimentare, respectiv ca un organ de tranzit intercalat între intestin și circulația generală. În ficat se desfășoară și alt proces biochimic important, anume transformarea substanțelor neglucidice (lipide, protide, acizi, aldehide etc.) în glucoză, proces cunoscut sub denumirea de *gluconeogeneză*. În acest fel din acizi inferiori, cum sînt acizii: acetic, propionic, lactic și buritic se formează glucoză.

Glicogenul hepatic constituie o rezervă de glucoză imediat disponibilă pentru a menține nivelul constant al glucozei în sînge. În cazul cînd organismul este saturat în glicogen și deci se află un exces de glucoză, aceasta este transformată în parte în lipide și în parte catabolizată pînă la CO_2 și H_2O cu eliberarea de energie.

Glucidele libere din organismele animale sînt reprezentate de glucoză (80—120 mg% în sînge, 20 mg% în mușchi, 30—40 mg% în mușchii inimii), glicogen hepatic, glicogen muscular, glucide tisulare.

În schema următoare este redat circuitul glucidelor animale realizat în ficat, sînge și mușchi:



Forma legată a glucidelor o constituie glicoprotidele și în mai mică măsură glicolipidele.

Scanned with OKEN Scanner

Dinamica glucozei în organismele animale este dependentă de sistemele de reglare hormonale și enzimatice.

10.4.2. CATABOLISMUL GLUCIDELOR

Degradarea sau catabolismul glucidelor în organismele animale poate avea ca punct de plecare glucoza sau glicogenul. În cazul cînd catabolismul începe cu glucoza, în prima etapă se formează glucozo-6-fosfat, din glucoză și ATP, în prezență de glucokinază. Această reacție este puternic endergonică.

În cazul în care procesul începe de la glicogen, prima etapă este o reacție de scindare a glicogenului în prezența acidului fosforic, procesul fiind denumit fosforoliză, în prezența fosforilazei, dînd naștere la glucozo-1-fosfat, de la care, prin izomerizare, se formează glucozo-6-fosfat:

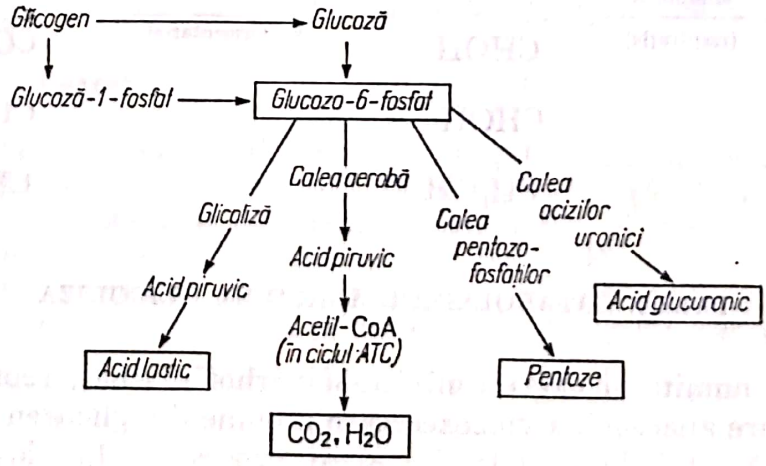
$$(C_6H_{10}O_5)_n + H_3PO_4 \xrightarrow{\text{fosforilază}} (C_6H_{10}O_5)_{n-1} + \text{Glucozo-1-fosfat}$$

$$\text{Glucozo-1-fosfat} \xrightarrow{\text{Glucofosfomutază}} \textit{Glucozo-6-fosfat}$$

Glicogen

Glucozo-6-fosfatul reprezintă o componentă intermediară de cea mai mare importanță în catabolizarea atît a monoglucidelor, cît și a glicogenului. Acest compus poate fi catabolizat în continuare pe diferite căi, și anume: poate fi degradat anaerob, pînă la acid lactic *(glicoliză)* și aerob pînă la CO_2 și H_2O și energie sau să fie transformat în pentoze *(calea pentozofosfaților)* sau acid glucuronic *(calea acizilor uronici)*. Procesul de eliberare a glucozei din glicogen poartă denumirea de *glicogenoliză*.

Catabolizarea glucidelor poate fi reprezentată schematic astfel:

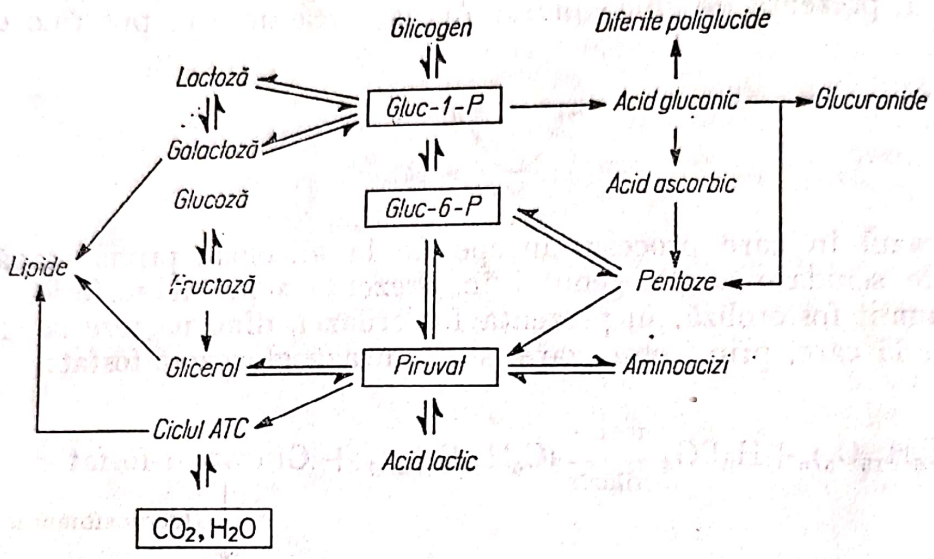


Forma de existență a hexozofosfaților determină care din calea de degradare a glucozei este urmată. În cazul fosforilării glucozei pînă la fructozo-1,6-difosfat are loc degradarea anaerobă, prin procesul de glicoliză, pînă la

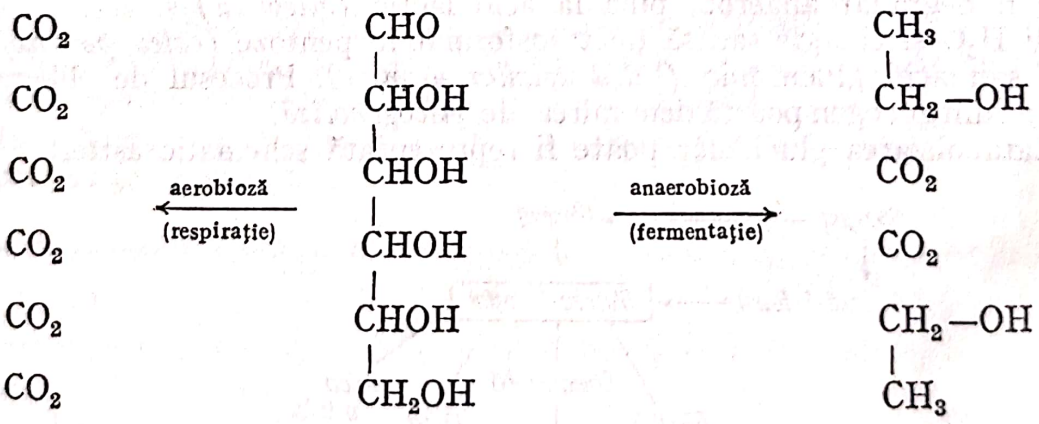
Scanned with OKEN Scanner

faza de acid lactic; în cazul fosforilării glucozei la glucozo-6-fosfat se petrece o dehidrogenare cu formare de gluconolacton-6-fosfat, care este apoi catabolizat pe calea pentozo-fosfaților; în cazul cuplării glucozo-1-fosfatului cu UTP în UDP-glucoză, degradarea este urmată de o oxidare la acid glucuronic, care apoi poate fi catabolizat pe diferite căi și în diferiți produși.

O schemă generală a catabolismului glucidelor în organismele animale, direcțiile și produșii finali poate fi redată astfel:



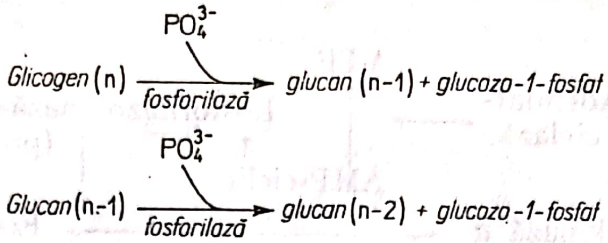
Întrucît în organismele animale principalul glucid este glucoza, bilanțul degradării acestui monoglucid în anaerobioză (fermentație) și în aerobioză (respirație) poate fi redat astfel:



10.4.2.1. CATABOLISMUL ANAEROB. GLICOLIZA

Glicoliza, numită și calea Embden-Mayerhoff-Parnas, reprezintă procesul de degradare anaerobă a glucozei, care provine din glicogen sau este glucoză circulantă, pînă la acid lactic. Acest proces are loc fără participarea oxigenului molecular, iar intermediarul caracteristic este fructozo-1,6-difosfatul. În țesutul muscular, acest proces începe de la glicogen și parcurge 12 etape.

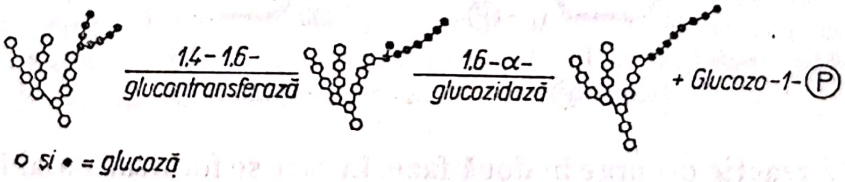
Prima etapă o constituie fosforiloza glicogenului sub acțiunea acidului fosforic, în prezența fosforilazei, și constă în scindarea mereu a cîte o moleculă de glucoză din catena poliglucidică a glicogenului, cu formare de glucozo-1-fosfat:



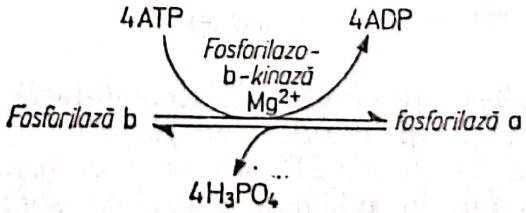
Reacția constă în scindarea a cîte o legătură 1,4-glicozidică situată la extremitatea catenei și transferul unui rest glucozil pe acid ortofosforic anorganic. Degradarea glicogenului poartă denumirea de glicogenoliză.

Fosforilaza, care este o 1,4-glucanfosfatglucoziltransferază, este capabilă să catalizeze numai desfacerea legăturilor 1,4-α-glicozidice. Legăturile 1,6-α-glicozidice sînt scindate sub influența amino-1,6-glicozidazei, care este o enzimă de ramificare și acționează hidrolitic și nu fosforolitic. Procesul sub acțiunea amilo-1,6-glicozidazei decurge numai în aparatul digestiv, în timp ce sub acțiunea fosforilazei are loc cu precădere în ficat și mușchi, dar și în alte țesuturi.

Desfacerea legăturilor 1,6-α-glicozidice se realizează prin acțiunea conjugată a două enzime și anume: 1,4-1,6-glucantransferaza și 1,6-glucozidaza. Aceste enzime sînt necesare deoarece fosforilaza este capabilă de a scinda legăturile din vecinătatea ramificațiilor. Fosforilaza își încetează acțiunea cu patru resturi de glucoză înainte de o legătură 1,6-α-glicozidică. Enzima 1,4-1,6-glucantransferaza transferă trei resturi de glucoză dintr-o parte a ramificației în cealaltă, ceea ce duce la lungirea catenei poliglucidice formate cu legături 1,4-α-glicozidice și scurtarea ramificației pînă la un rest glucidic, care este scindat de către 1,6-α-glucozidază (o enzimă hidrolitică).

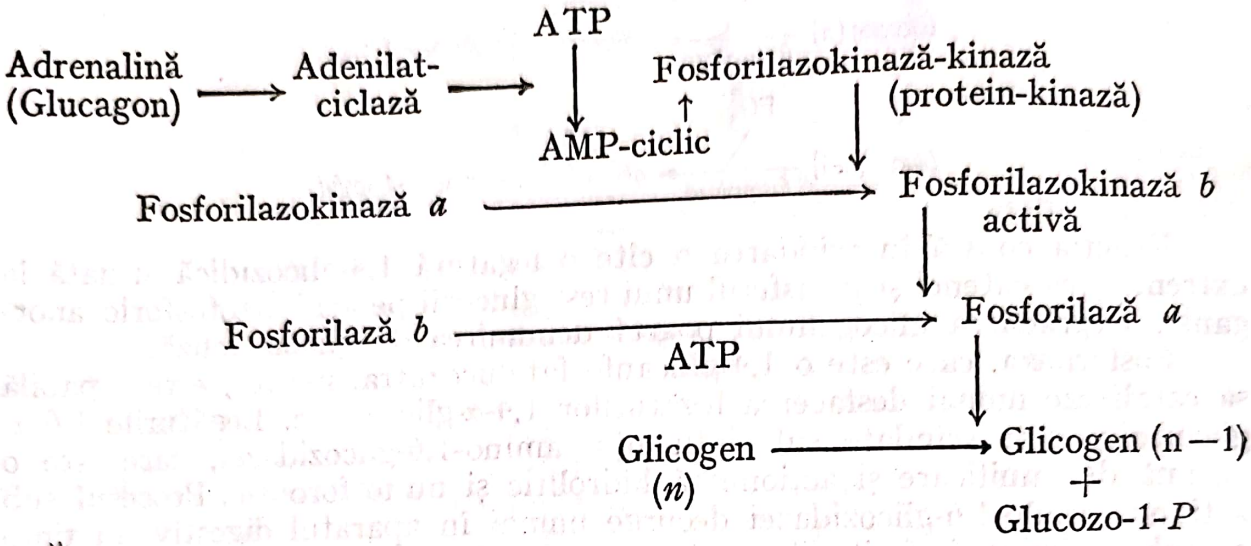


Așa cum rezultă, principala enzimă a procesului de fosforoliză este fosforilaza hepatică, care există sub două forme: *fosforilaza b*, care este puțin activă și *fosforilaza a*, care este forma activă și reprezintă forma *b* fosforilată. Formarea fosforilazei active din cea puțin activă se realizează printr-un proces enzimatic reversibil sub acțiunea fosforilaza-*b*-kinazei și Mg^{2+}, care favorizează transformarea unui PO_4^{3-} din ATP pe fosforilaza *b*.



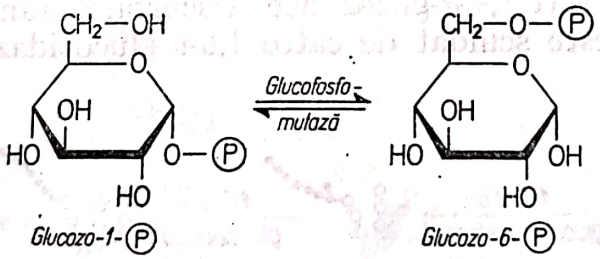
La rîndul ei, fosforilaza-*b*-kinază este activată în ficat de către AMP-ciclic și reglată de hormonii hiperglicemianți (adrenalină și glucagon), iar în mușchi numai de către adrenalină.

Mecanismul de acțiune al adrenalinei și sistemul adenilatciclază-AMP ciclic poate fi redat astfel:

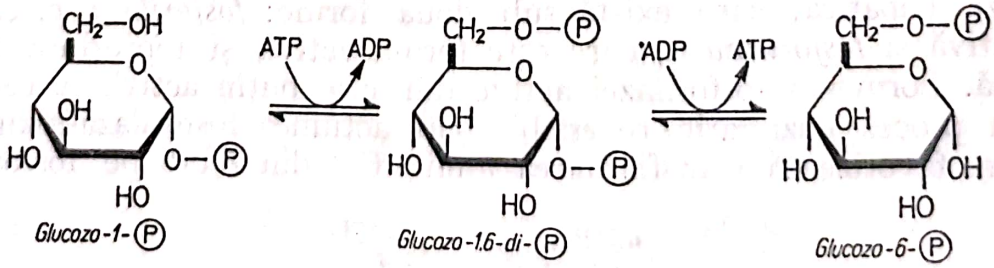


În general, în țesutul hepatic este suficientă acțiunea fosforilazei *b*, iar fosforilaza *a* intervine numai atunci cînd este necesară producerea unei cantități mai mari de glucoză, ca urmare a unui efort fizic intens sau prelungit. Aceste enzime sînt localizate în citoplasma celulară. Scindarea glicogenului sub acțiunea α-glicozidazelor se realizează în lizozomi.

Cea de-a *doua etapă* constă în izomerizarea glucozo-1-fosfatului, sub acțiunea glucofosfomutazei, în glucozo-6-fosfat:



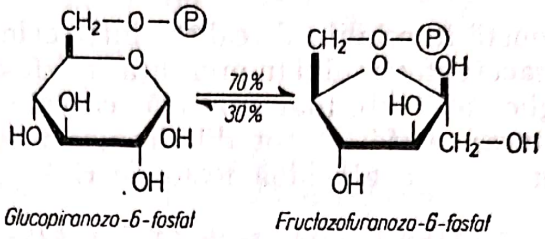
Această reacție decurge în două faze, în care se formează mai întîi glucozo-1,6-difosfat, iar acesta este scindat la glucozo-6-fosfat și fosfat anorganic.



Echilibrul se stabilește în favoarea glucozo-6-fosfatului, care se formează în proporție de 94,5%. În cazul cînd glicoliza pornește de la glucoză, aceasta este fosforilată de către ATP, la glucozo-6-fosfat, printr-o reacție ireversibilă. În ficat s-a pus în evidență o enzimă specifică numită glucozo-

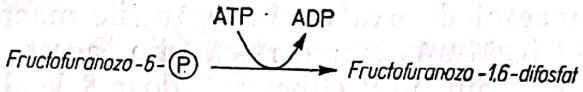
6-fosfatază, care este capabilă să hidrolizeze ireversibil glucozo-6-fosfatul la glucoză liberă.

În a *treia etapă*, glucozo-6-fosfatul este izomerizat, sub acțiunea fosfohexozizomerazei din mușchi în fructofuranozo-6-fosfat. În prezența fosfohexozizomerazei din mușchi, se stabilește un echilibru între forma piranozică a glucozo-6-fosfatului (70%) și forma furanozică a fructofuranozo-6-fosfatului (30%):



Glucopiranozo-6-fosfat *Fructozofuranozo-6-fosfat*

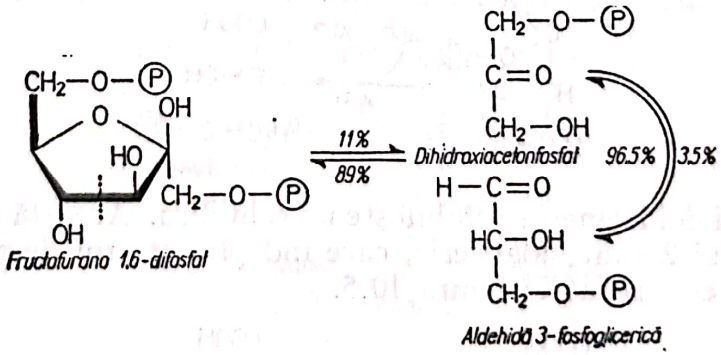
În *etapa a patra* fructofuranozo-6-fosfatul este fosforilat de ATP, în prezența fosfofructokinazei, la fructofuranozo-1,6-difosfat:



Întrucît în această reacție intervine ATP, din punct de vedere energetic reacția prezintă o importanță deosebită. De asemenea, fosfofructokinaza, care se află în ficat, este enzima cea mai puțin activă dintre enzimele implicate în procesul de glicoliză. De aceea, această enzimă este o limitantă a vitezei de reacție în glicoliză în țesuturile hepatice la diferite specii animale. Fosfofructokinaza este activată de către AMP și AMP-ciclic și inhibată de ATP.

Inhibarea fosfofructokinazei de excesul de ATP și reactivarea ei de către AMP reprezintă o legătură directă între starea de energie a celulei și glicoliză.

Etapa a cincea constă în scindarea fructofuranozo-1,6-difosfatului, sub acțiunea aldolazei (fructozo-1,6-difosfatliază), o enzimă care posedă un exces de grupări bazice care îi permit să se lege de resturile de esteri fosforici ai fructozei, în două molecule de trioze și anume: aldehida 3-fosfoglicerică și dihidroxiacetonfosfat:



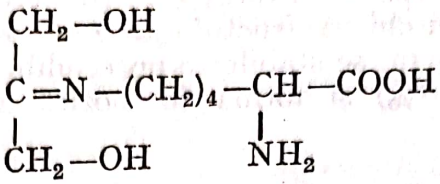
Fructofurano 1,6-difosfat *Aldehidă 3-fosfoglicerică*

Echilibrul se stabilește în favoarea hexozei, dar prin faptul că cele două trioze sînt mereu scoase din sistem și trecute în acid fosfoenolpiruvic, reacția are loc în sensul scindării fructofuranozo-1,6-difosfatului.

Mecanismul reacției prin care intervine aldolaza constă în combinarea substratului cu enzima, în care gruparea HO semiacetalică a fructofura-

Scanned with OKEN Scanner

nozo-1,6-difosfatului se leagă de azotul grupării ε-amino dintr-un rest de lizină, iar dihidroxiacetonfosfatul format nu se detașează de enzimă:



Etapa a șasea constă în echilibrul realizat între cele două trioze, care este în favoarea dihidroxiacetonfosfatului în prezența triozfosfatizomerazei. Deoarece aldehida 3-fosfoglicerică este mai reactivă, ea este transformată mai departe, în etapa a șaptea, astfel că tot dihidroxiacetonfosfatul este antrenat în continuare în formare de aldehidă fosfoglicerică și apoi de acid-3-fosfogliceric.

În *etapa a șaptea* are loc o reacție de oxidoreducere fosforilantă cu transformarea aldehidei 3-fosfoglicerice în acid 1,3-difosfogliceric (fig. 10.4). Această etapă are o semnificație deosebită, deoarece prin fosforilarea oxidativă cu fixarea de fosfat anorganic ce are loc se realizează înglobarea energiei rezultate din procesul de oxidare în legăturile macroergice ale acidului 1,3-difosfogliceric. O legătură macroergică din acest compus înglobează 12 kcal, în timp ce una din ATP eliberează doar 8 kcal.

În *etapa a opta*, acidul 1,3-difosfogliceric cedează legătura macroergică, în prezență de fosfoglicerokinază, unei molecule de ADP. În acest fel, energia reacției exergonice apare conservată într-o legătură macroergică de ATP.

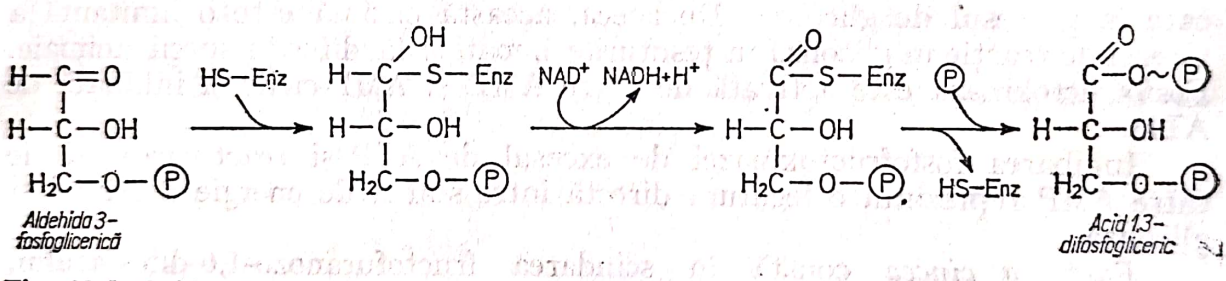
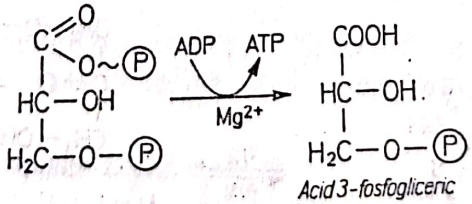


Fig. 10.4. Oxidoreducerea fosforilantă a aldehidei fosfoglicerice în acid 1,3-difosfogliceric.

În *etapa a noua* acidul 3-fosfogliceric este izomerizat de către fosfogliceromutază la acid 2-fosfogliceric.



Între acești doi izomeri se stabilește un echilibru. Această reacție necesită prezența acidului 2,3-difosfogliceric, care îndeplinește rol de coenzimă. Mecanismul reacției este redat în figura 10.5.

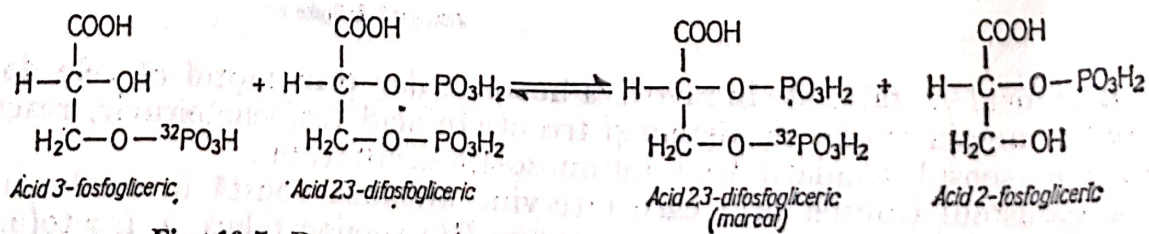
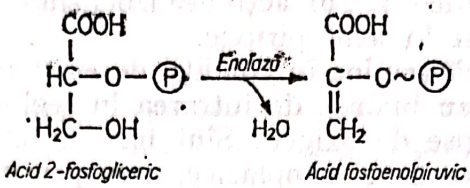


Fig. 10.5. Reacția de participare a acidului 2,3-difosfogliceric.

Scanned with OKEN Scanner

La izomerizarea acidului 3-fosfogliceric se formează intermediar un acid 2,3-difosfogliceric care este apoi hidrolizat la acid 2-fosfogliceric.

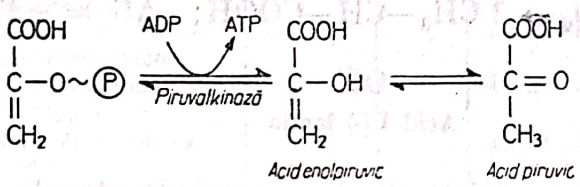
În *etapa a zecea*, acidul 2-fosfogliceric pierde o moleculă de apă și trece în acid fosfoenolpiruvic, în care legătura fosfoesterică s-a transformat în legătură macroergică:



Acid 2-fosfogliceric *Acid fosfoenolpiruvic*

Această etapă, ca și a șaptea, prezintă o deosebită importanță din punct de vedere energetic, întrucît transformă o legătură fosforică într-o legătură fosforică macroergică fără participarea unei reacții de oxidare din afară.

Transformarea acidului fosfoenolpiruvic în acid piruvic reprezintă *etapa a 11-a*.



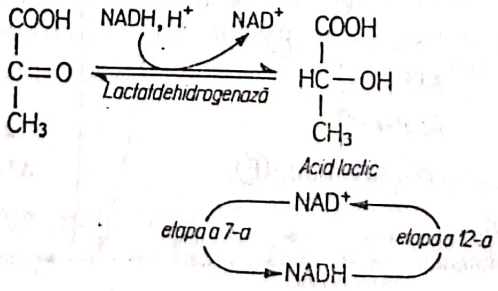
Acid enolpiruvic *Acid piruvic*

Această reacție necesită prezența ionului K^+ și ADP, care este acceptorul de fosfat eliberat cu formare de ATP. Formarea de ATP servește la fosforilarea unei cantități echivalente de glucoză, astfel că formarea de acid piruvic este legată de procesul de fosforilare.

Prin faptul că rezultă acid piruvic, această etapă prezintă importanță însemnată, deoarece acest acid constituie punctul de plecare în catabolismul aerob al glucidelor, iar pe de altă parte face legătura cu metabolismul protidelor.

Piruvatkinaza este inhibată de acil-CoA cu rest acil cu catenă lungă și de mononucleotide polifosforilate (CDP și UDP). În acest fel mononucleotidfosfații pot funcționa ca acceptori de fosfat, cu formare de CTP și UTP. Acest fapt denotă că etapa a 11-a a glicolizei are rol deosebit și în formarea nucleotidtrifosfaților necesari la sinteza acizilor nucleici.

În *etapa a 12-a* are loc reducerea acidului piruvic la acid lactic:



NADH provine din reacția etapei a șaptea, iar NAD^+ din etapa a 12-a și este reutilizat în etapa a șaptea, constituind un ciclu.

Acest fapt denotă că are loc cuplarea proceselor oxidative cu cele reductive, ceea ce constituie o caracteristică a glicolizei.

Glicoliza duce la formarea de acid piruvic care este utilizat de mitocondrii. Degradarea completă a glucozei comportă deci două serii de reacții: *una*,

Scanned with OKEN Scanner

catalizată de enzimele solubile ale citoplasmei, care este posibilă atît în anaerobioză, cît și în aerobioză, *a doua* este catalizată de enzimele din mitocondrii, care este strict aerobă.

Formarea acidului lactic poate deveni importantă în mușchi la un efort muscular. Acumularea de acid lactic provoacă oboseală și rigiditate musculară, determinînd lactacidemie. Sub acțiunea izoenzimei hepatice LDH acidul lactic poate fi convertit în acid piruvic.

Procesul de glicoliză are loc în condiții de efort muscular foarte intens, dar de durată scurtă sau înainte de intrarea în regim a organismului, prin crearea unei relative lipse de oxigen. Sînt însă și țesuturi, ca, de exemplu, retina, țesuturile embrionare și neoplazice, care prezintă incapacitatea de a degrada, pe calea oxidativă, acidul piruvic. Acidul lactic format este preluat de sînge și transportat la ficat, unde este convertit în acid piruvic. În glicoliză rezultă totdeauna acid *L*(-)lactic, în timp ce în fermentația lactică se formează forma racemică.

Procesul global al glicolizei este redat prin următoarea ecuație:

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2\ CH_3-\underset{\displaystyle OH}{\underset{|}{CH}}-COOH; \quad \Delta G = -47\ kcal$$

Acid L(-) lactic

Dealtfel, în sens strict, glicoliza cuprinde etapele de transformare a glucozei în acid lactic.

Procesul glicolizei de-a lungul celor 12 etape este redat în figura 10.6.

— *Bilanțul energetic al procesului de glicoliză.* Pentru efectuarea bilanțului energetic al glicolizei este necesar să se calculeze diferența dintre numă-

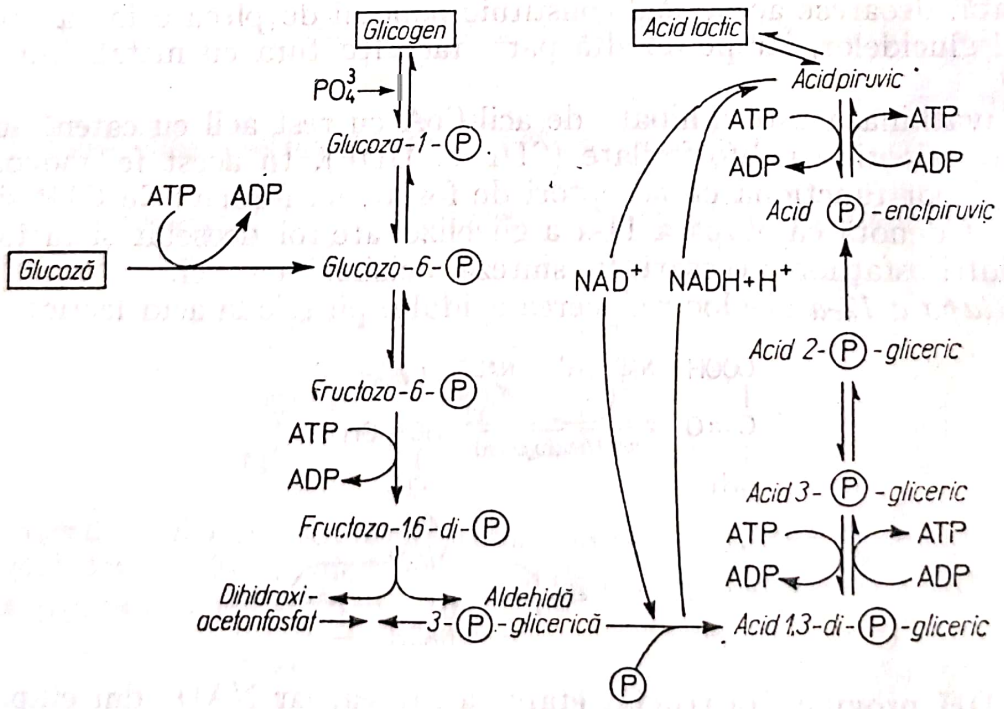


Fig. 10.6. Etapele glicolizei.

rul legăturilor macroergice rezultate în cele 12 etape și numărul celor consumate pe parcursul lor. În cazul cînd glicoliza începe de la glucoză are loc un consum de doi moli de ATP, unul în etapa întîi și altul în etapa a doua.

Scanned with OKEN Scanner

În etapa a 7-a se eliberează un mol NADH, iar în etapele a 8-a și a 11-a, se eliberează cîte un mol ATP. În etapa ultimă, a 12-a, se consumă un mol NADH. Avînd în vedere că dintr-o moleculă de glucoză se formează două molecule de trioze, numărul molilor de ATP și NADH în aceste etape se dublează. Astfel că în final, bilanțul glicolizei este de doi moli ATP sintetizat (tabelul 10—2).

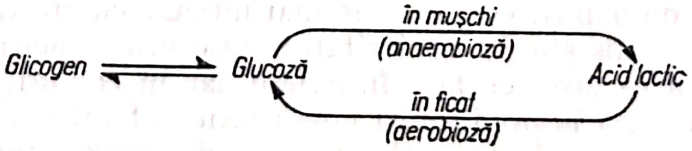
Tabelul 10—2

Bilanțul energetic al glicolizei

Glucoză	Reacția	Acceptor de *H*	Donor de H	ATP		
				sintetizat	Consumat	Total
↓	Glucoză → glucozo-6-fosfat;					1
	fructozo-6-fosfat → fructofuranozo-1,6-difosfat;					1
	gliceroaldehid-3-fosfat → → acid 1,3-difosfogliceric;	$2NAD^+$		$2\times3=6$		
	acid 1,3-difosfogliceric → → acid 3-fosfogliceric;			$1\times2=2$		
	acid fosfoenolpiruvic → acid piruvic			$1\times2=2$		
2 moli acid piruvic ↓						
2 moli acid lctic	ac. piruvic→ac.lactic	2NADH			$2\times3=6$	
						2 moli

Din energia rezultată în glicoliză doar 40—50% este înglobată în legăturile macroergice din ATP. În același timp, deși energia furnizată în glicoliză este mai mică decît oxidarea aerobă (ciclul ATC), din punct de vedere energetic este totuși importantă, deoarece asigură o rapidă producere a energiei, în cazul cînd țesutul nu are la dispoziție oxigenul necesar. Imediat ce condițiile anaerobe încetează, glicoliza împreună cu consumul de glucoză este mult restrînsă.

Funcția ciclică a acidului lactic. Acidul lactic rezultat în glicoliză nu este un produs de eliminare din organism, ci este utilizat pe mai multe căi, fie în proces catabolic aerob, fie în proces anabolic, în resinteza glucozei. În procesul anabolic energia necesară este asigurată de procesul catabolic aerob. Acest fapt demonstrează că acidul lactic constituie un punct important într-un proces ciclic, numit *ciclul lui Cori*, reprezentat prin următoarea schemă:

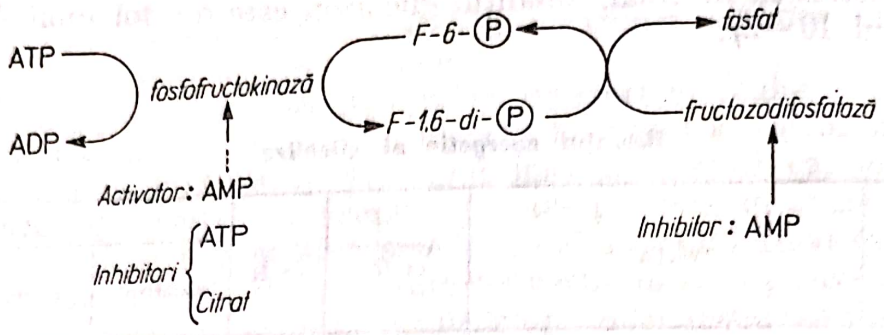


Raportul dintre acidul lactic total și acidul lactic oxidat exprimă intensitatea reacției. Pentru procesul de gluconeogeneză din acid lactic energia necesară este asigurată prin catabolizarea oxidativă a 1/5 din acidul lactic total, iar 4/5 din acest acid este transformat în glicogen.

Reglarea glicolizei. Degradarea glucozei pe calea glicolitică este condiționată și de utilizarea ATP de către contracțiile mușchilor. Viteza glicolizei

Scanned with OKEN Scanner

poate fi reglată prin activitatea enzimelor implicate în proces. Enzima cheie este fosforilaza, care este activată allosteric de către AMP. Interrelațiile între activatorii și inhibitorii enzimelor din procesul glicolizei pot fi schematizate astfel:



Oxigenul este de asemenea un factor inhibitor al enzimelor, contribuind la instalarea unei oxidări celulare aerobe.

Efectul Pasteur. Acest efect reprezintă procesul de inhibare a glicolizei de către procesul de respirație, respectiv inhibarea glicolizei de către oxigen. Suprimarea totală sau parțială a glicolizei în prezența oxigenului molecular constituie un aspect energetic economic pentru organism și are loc în majoritatea țesuturilor normale, dar în proporții diferite. Efectul Pasteur reprezintă un mecanism de reglare a consumului de energie și intervine atunci cînd randamentul este scăzut. În acest fel glicoliza, care produce doi moli ATP, este înlocuită cu procesul de respirație.

Pentru explicarea efectului Pasteur s-au emis mai multe ipoteze, fiecare fiind confirmate în parte de fapte experimentale:

— Existența unei competiții pentru fosfat anorganic sînt intens solicitate, astfel că în prezența oxigenului ele sînt sustrase procesului glicolizei, care este deci inhibat;

— Oxidarea grupărilor —SH din tioenzimele (triozfosfatdehidrogenaze) participante în reacțiile glicolizei;

— După localizarea intracelulară a proceselor metabolice anaerobe și aerobe, ipoteză ce are în vedere faptul că enzimele degradării aerobe se află în mitocondrii, iar ale glicolizei în citoplasmă. Membrana mitocondrială este o barieră pentru ATP. În mitocondrii, în prezență de oxigen, are loc acumularea de ATP, care nu mai este disponibil pentru fosforilarea extramitocondrială în citoplasmă la fosforilarea glucozei în prezență de hexokinază (faza a doua a glicolizei). În acest fel are loc inhibarea formării glucozo-6-fosfatului, din lipsa de ATP și existența și consumul scăzut de glucoză în celule în timpul respirației.

În retină și țesuturi embrionare, cerebrale și tumorale, intensitatea glicolizei în prezență de oxigen este cu atît mai intensă cu cît tumorile sînt mai maligne. Aceasta lipsește la majoritatea țesuturilor normale. În condiții anaerobe glicoliza se produce fără întîrziere, iar în condiții aerobe ea încetează sau este limitată la producerea unei cantități foarte mici de acid piruvic, dar cu furnizarea unei cantități suficiente de energie, pe cale oxidativă, pentru celule. Această reacție sau efect poartă denumirea de efectul *Pasteur-Meyerhof*.

Efectul Crabtree. În țesutul embrionar și în țesuturile tumorale efectul *Pasteur* nu este eficace, întrucît în aceste țesuturi prezența oxigenului molecular nu inhibă glicoliza. *Crabtree* a constatat că la adăugarea de glucoză sau de alte glucide fermentescibile respirația este inhibată. În aceste condiții

are loc o inhibare a respirației de către glicoliză și deci se produce un efect Pasteur inversat, care poartă numele de *efect Crabtree*. În acest proces predomină competiția pentru fosfatul anorganic. Efectul Crabtree se explică printr-o dereglare, la nivelul hexokinazei. Datorită acumulării de ATP în mitocondrii, hexokinaza din citoplasmă nu poate acționa din lipsă de ATP.

10.4.2.2. CATABOLISMUL AEROB

Catabolismul aerob al glucidelor decurge după aceleași etape ca în glicoliză, pînă la acidul piruvic, care este apoi catabolizat în anaerobioză și îndeosebi în aerobioză.

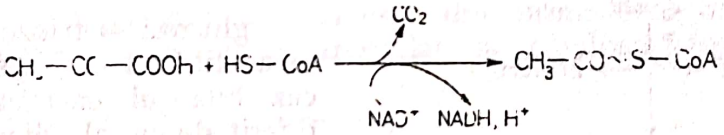
Catabolizarea acidului piruvic în anaerobioză. Așa cum s-a arătat, în anaerobioză acidul piruvic conduce fie la acid lactic (proces predominant în contracția mușchiulară în anaerobioză sau în fermentația lactică), fie la alcool etilic (în fermentație alcoolică). Trecerea acidului piruvic în acid lactic a fost menționată.

— *Convertirea acidului piruvic în acetaldehidă.* Această transformare constă într-o decarboxilare a acidului piruvic:

$$CH_3—CO—COOH \rightarrow CH_3—CHO + CO_2$$

Catabolizarea acidului piruvic în aerobioză. În aerobioză destinația acidului piruvic este foarte diferită.

— *Decarboxilarea acidului piruvic și formarea acetil-CoA.* Acidul piruvic este decarboxilat oxidativ în prezența piruvatdecarboxilazei cu NAD^+ de coenzimă A, acid lipoic, tiaminpirofosfat (TPP), FAD și a ionilor Mg^{2+} cu formare de acetilcoenzimă A conform reacției globale:



Procesul este multienzimatic și decurge în mai multe etape. Mai întîi se formează tiamin-acetataldehidă, care nu pune în libertate aldehida acetică, cum se întîmplă în fermentația alcoolică, ci datorită intervenției acidului lipoic, coenzimei A și NAD^+ rezultă acetil-CoA (fig. 10.7).

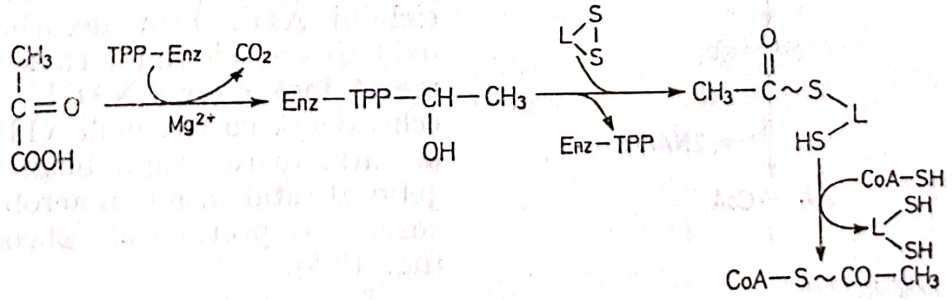


Fig. 10.7. Formarea acetilcoenzimei A din acid piruvic.

Acetil-CoA este antrenată în degradrea aerobă pe calea ciclului ATC. Alte direcții de utilizare a acetil-CoA se vor arăta la degradrea acizilor grași.

Acidul piruvic poate servi ca etapă de plecare pentru organismele animale în biosinteza aminoacizilor și a altor compuși azotați, după cum se

Scanned with OKEN Scanner

va arăta la capitolul respectiv. O reacție importantă a acidului piruvic care se încadrează în metabolismul glucidelor este *carboxilarea.*

— *Carboxilarea acidului piruvic.* Acidul piruvic fixează CO_2 cu formarea de acid oxalilacetic: $CH_3-CO-COOH + CO_2 \rightleftharpoons HOOC-CH_2-CO-COOH$.

Prin utilizarea de carbon radioactiv, acesta s-a găsit în acidul oxalilacetic:

$$CH_3-CO-COOH + {}^*CO_2 \longrightarrow HOO^*C-CH_2-CO-COOH$$

Reacția este catalizată de piruvat-carboxilază, în care este necesar ATP.

În organismele animale se petrec alte două mecanisme de carboxilare a acidului piruvic:

1. $CH_3-CO-COOH + {}^*CO_2 + NADPH + H^+ \rightarrow HOO^*C-CH_2-CHOH-COOH + NADP^+$

2. $HOO^*C-CH_2-CHOH-COOH + NAD^+ \longrightarrow HOO^*C-CH_2-CO-COOH + NADH + H^+$

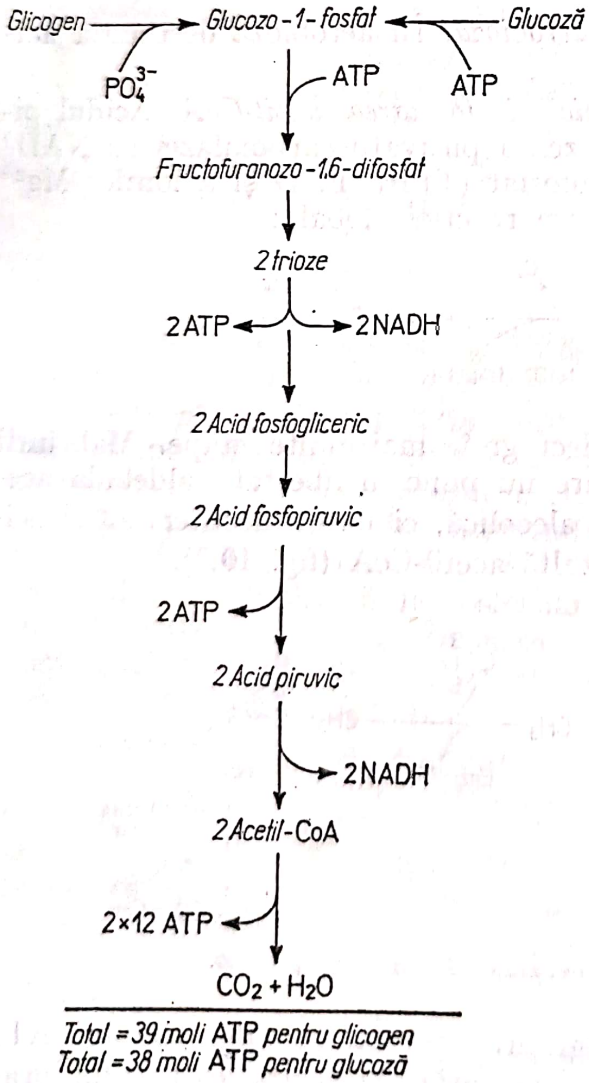


Fig. 10.8. Bilanțul energetic al catabolizării aerobe a glucozei.

Reacția 1 este catalizată de decarboxilaza malică, iar reacția 2 de către malatdehidrogenază.

Bilanțul energetic al catabolismului aerob al glucozei. În aerobioză glucoza este convertită după schema următoare:

glucoză → trioze → acid piruvic → acetil-CoA → CO_2 și H_2O. În acest caz bilanțul energetic este foarte diferit de cel al glicolizei. În aerobioză, de la început NADH poate transfera hidrogenul său pînă la oxigen, ceea ce permite o recuperare de trei legături macroergice. Pe de altă parte, acidul piruvic se poate degrada pînă la CO_2 pe calea ciclului ATC. Prin decarboxilarea oxidativă a acidului piruvic se formează încă un mol NADH, ceea ce echivalează cu trei moli ATP. Schema următoare rezumă bilanțul energetic al catabolismului aerob al glucozei, respectiv al glicogenului (fig. 10.8).

Întrucît, în cazul glucozei se consumă, în primele faze doi moli ATP, bilanțul energetic este de 38 moli ATP. În cazul glicogenului, bilanțul energetic este de 39 moli ATP, întrucît nu se consumă decît un mol ATP.

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

10.4.2.3. ALTE CĂI DE CATABOLIZARE A GLUCIDELOR

În afară de catabolizarea glucidelor pe calea glicolizei și calea aerobă, urmată de calea ciclului ATC, au fost puse în evidență, la animale și la plante, existența unor căi de catabolizare prin oxidare directă a glucidelor, și anume: *calea pentozofosfaților* și *calea acizilor uronici.*

Calea pentozofosfaților. Sub aspect cantitativ, catabolizarea oxidativă a glucozei pe calea pentozofosfaților, în comparație cu cea de degradare pe calea aerobă, este o cale secundară, întrucît doar 8—30% din totalul glucozei este catabolizată pe această cale. Procesul este deosebit de important pentru organismele animale, întrucît pe această cale se asigură necesarul de pentoze pentru biosinteza nucleotidelor, a acizilor nucleici și a enzimelor cu structură nucleotidică. Reiese deci faptul că degradarea glucozei pe calea pentozofosfaților are două etape principale: una, care duce la sinteza pentozelor și alta, de formare a hexozelor din pentoze, ceea ce constituie un ciclu de transformări chimice. Analizînd mai atent acest proces, reiese că de fapt este un proces de oxidare directă a glucozei, care decurge ciclic. Sediul acestor transformări îl constituie ficatul (unde circa 50% din glucoza oxidată este degradată pe această cale), glanda mamară, cristalinul ochiului, rinichii, etc. Enzimele implicate în ciclul pentozofosfaților se află în țesuturile menționate. Așa sînt: glucozdehidrogenaza și gluconatdehidrogenaza, ambele avînd coenzima $NADP^+$. Mai participă la aceste transformări transaldoza și transcetolaza.

Transformarea hexozelor în pentoze. Acest proces începe cu glucozo-6-fosfat și duce la scindarea oxidativă a atomului de carbon carbonilic și formarea de pentoze. Mai întîi, glucozo-6-fosfatul este oxidat în prezența glucozo-6-fosfatdehidrogenazei, la lactona acidului 6-fosfogluconic, care este hidrolizată la acid 6-fosfogluconic. Acesta din urmă este oxidat la acid β-ceto-6-fosfogluconic, care este decarboxilat la ribulozo-5-fosfat, conform figurii 10.9.

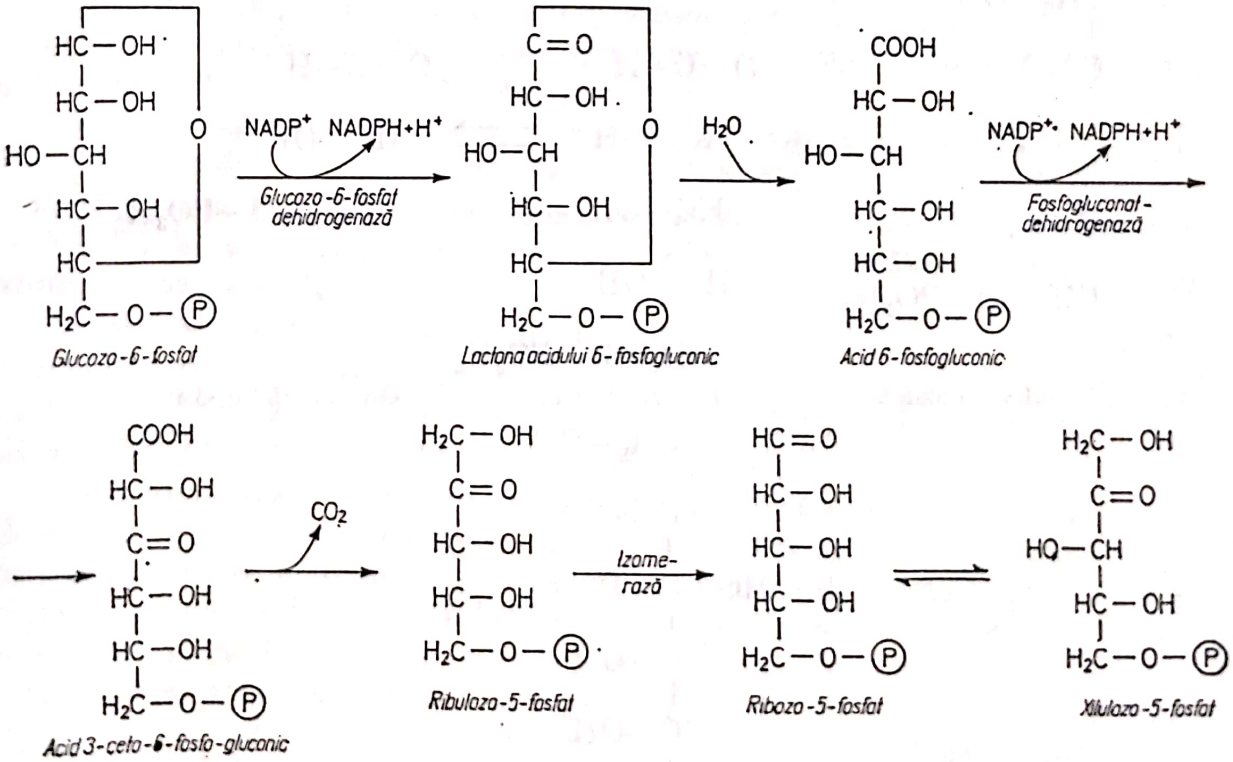


Fig. 10.9. Transformarea glucozei în pentoze pe calea pentozofosfaților.

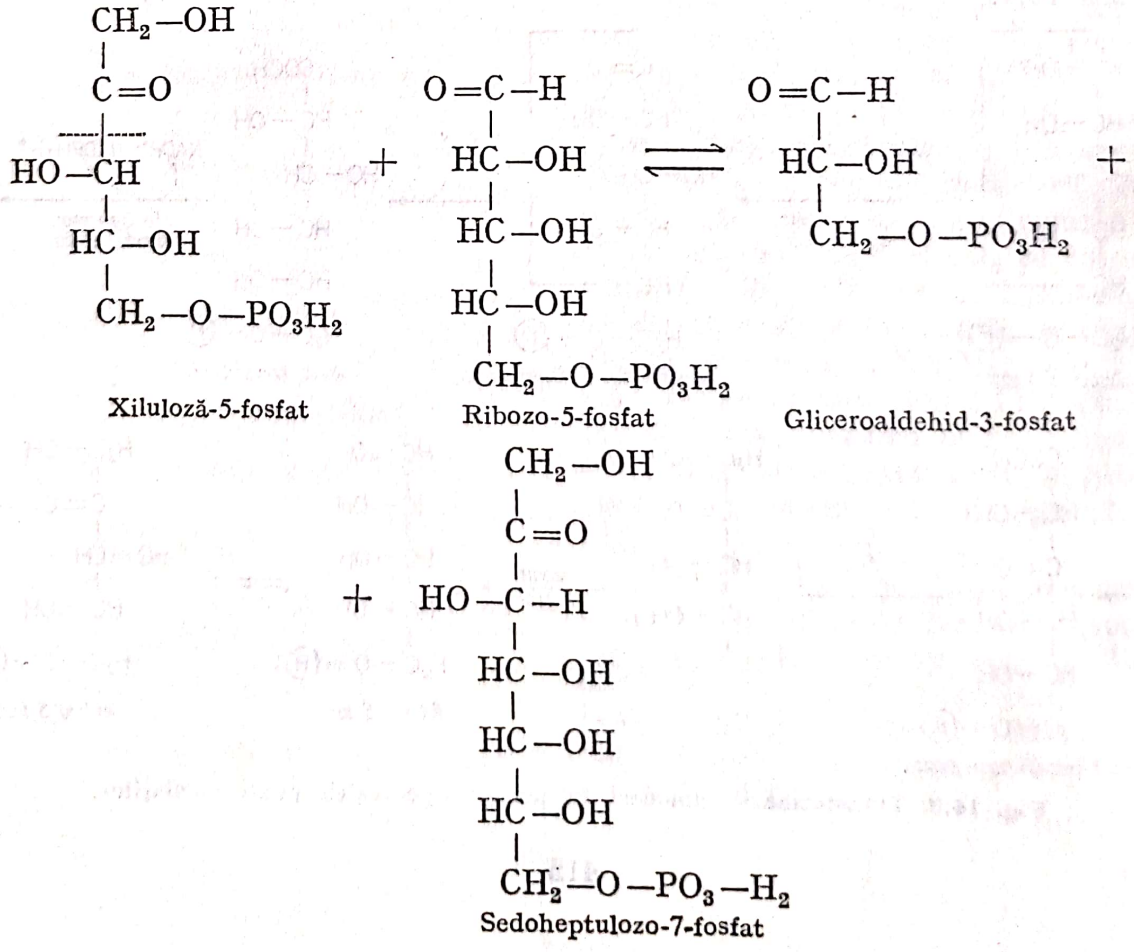
Global, procesul de transformare a glucozei în pentoze poate fi redat prin următoarea reacție:

$$\text{Glucozo-6-fosfat} + 2\,NADP^+ \rightarrow \text{Pentozo-5-fosfat} + CO_2 + 2(NADPH + H^+)$$

Calea pentozofosfaților reprezintă singura modalitate de sinteză endogenă a ribozei și deoxiribozei precum și principala cale de formare a NADPH. De asemenea, această cale permite ocolirea unor etape glicolitice care se realizează cu consum de ATP, cum este etapa: fructozo-6-fosfat → fructozo-1,6-difosfat, și este producătoare de cantități mari de trioze.

Cantitatea mare de NADPH rezultată în acest proces este utilizată în diferite reacții anabolice, cum sînt de exemplu, biosinteza acizilor grași din acid acetic. De remarcat faptul că aceste transformări, spre deosebire de ciclul ATC, în cazul cînd se pleacă de la glucozo-6-fosfat nu se consumă ATP, ceea ce constituie o diferențiere de ciclul ATC. Mai mult, deși se apreciază că sub aspectul energiei eliberate ciclul pentozofosfaților este minor, faptul că rezultă doi moli NADPH, corespunzînd la 6 moli ATP și că treptat toți cei șase atomi de carbon ai unei molecule de glucoză pot fi metabolizați succesiv la CO_2, bilanțul energetic este de 6×6 ATP $= 36$ ATP/mol glucoză. Acest fapt apropie calea de degradare a glucozei prin ciclul pentozofosfaților de ciclul ATC.

Transformarea pentozelor în hexoze. Regenerarea hexozelor și anume glucozo-6-fosfatul și fructozo-6-fosfatul din pentoze decurge prin mai multe reacții de izomerizare, transcetolizare și transaldolizare a diferitelor monoglucide, cum sînt: trioze, tetroze, hexoze și heptoze. Astfel, prin izomerizarea pentozofosfaților, așa cum s-a arătat în figura 10.6 în urma reacțiilor de echilibru se poate izomeriza ribozo-5-fosfatul în ribulozo-5-fosfat, iar acesta în xilulozo-5-fosfat. Prin transcetolizarea ribozo-5-fosfatului cu xilulozo-5-fosfat în prezența transcetolazei, care permite transferul unui rest $HOCH_2—CO—$ din xilulozofosfat pe gruparea aldehidică a ribozofosfatului se formează sedoheptulozo-7-fosfat și gliceroaldehid-3-fosfat:



Xiluloză-5-fosfat — Ribozo-5-fosfat — Gliceroaldehid-3-fosfat

Sedoheptulozo-7-fosfat

În acest mod din două pentoze se formează o trioză și o heptoză. În continuare, prin transaldolizarea sedoheptulozo-fosfatului cu triozo-fosfat, în prezența transaldolazei, are loc transferul restului $HO—CH_2—CO—$ de la heptuloză la trioză dînd naștere la eritrozo-4-fosfat și fructozo-6-fosfat. Printr-o nouă cetolizare a xilulozo-5-fosfatului cu eritrozo-4-fosfatul rezultat se formează o trioză și fructozo-6-fosfat (fig. 10.10).

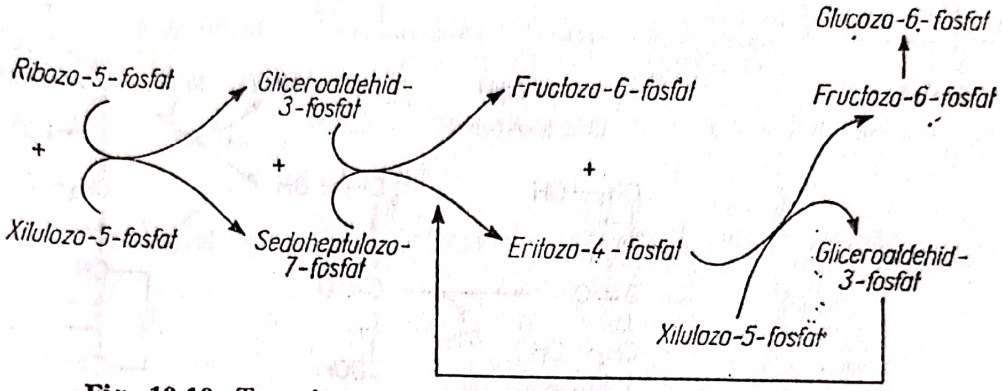


Fig. 10.10. Transformarea pentozelor în hexoze (în glucoză).

Fructozo-6-fosfatul rezultat poate intra din nou în reacție, urmînd calea pentozofosfaților într-un nou ciclu catabolic.

Calea acizilor uronici. În catabolizarea oxidativă pe calea acizilor uronici, glucoza participă sub formă de UDP-glucoză, care este mai întîi oxidată în prezența unei enzime cu coenzimă NAD^+, după următoarea reacție: UDP-glucoză + H_2O + NAD^+ → Acid UDP-glucuronic + NADH + H^+. Acidul UDP-glucuronic reprezintă forma activă a acidului glucuronic și deci poate reacționa ca atare în formarea diferitelor mucopoliglucide, dar el servește organismului și pentru cuplarea unor substanțe care sînt toxice, de unde rezultă și importanța lui pentru organism. Pe lîngă acidul glucuronic, pe calea acizilor uronici rezultă și alți compuși cu importanță biochimică, și anume: galactoza, acidul UDP-galacturonic și lactoza.

În procesul de catabolizare a glucozei pe calea acizilor uronici, acidul UDP-glucuronic este trecut în glucuronat-1-fosfat, care este hidrolizat la acid glucuronic liber și apoi hidrogenat de către enzima glucurono-reductaza și NADH la acid *L*-gulonic, de la care, prin decarboxilare se obține apoi xiluloza, conform figurii 10.11.

Formarea pentozei este localizată în faza lichidă a celulei, iar pentoza se metabolizează în continuare pe calea pentozofosfaților. O parte din xiluloză, în bolile congenitale, apare în urină producînd pentozurie. Acest fapt este determinat de oprirea acestor transformări la fază L-xiluloză.

O parte a acidului L-gluonic poate parcurge o altă cale metabolică decît cea de trecere în xiluloză și anume de formare a acidului ascorbic. Pentru sinteza acidului ascorbic este necesară prezența gulonolactonoxidazei, enzimă care lipsește la om, maimuță și cobai fapt ce explică imposibilitatea biosintezei ei la aceste specii. Biosinteza acidului ascorbic este localizată în microzomi. Faptul că la animalele tinere biosinteza acidului ascorbic are loc în mai mică măsură se explică prin aceea că glucoza la aceste animale este intens consumată în vederea obținerii energiei.

Scanned with OKEN Scanner

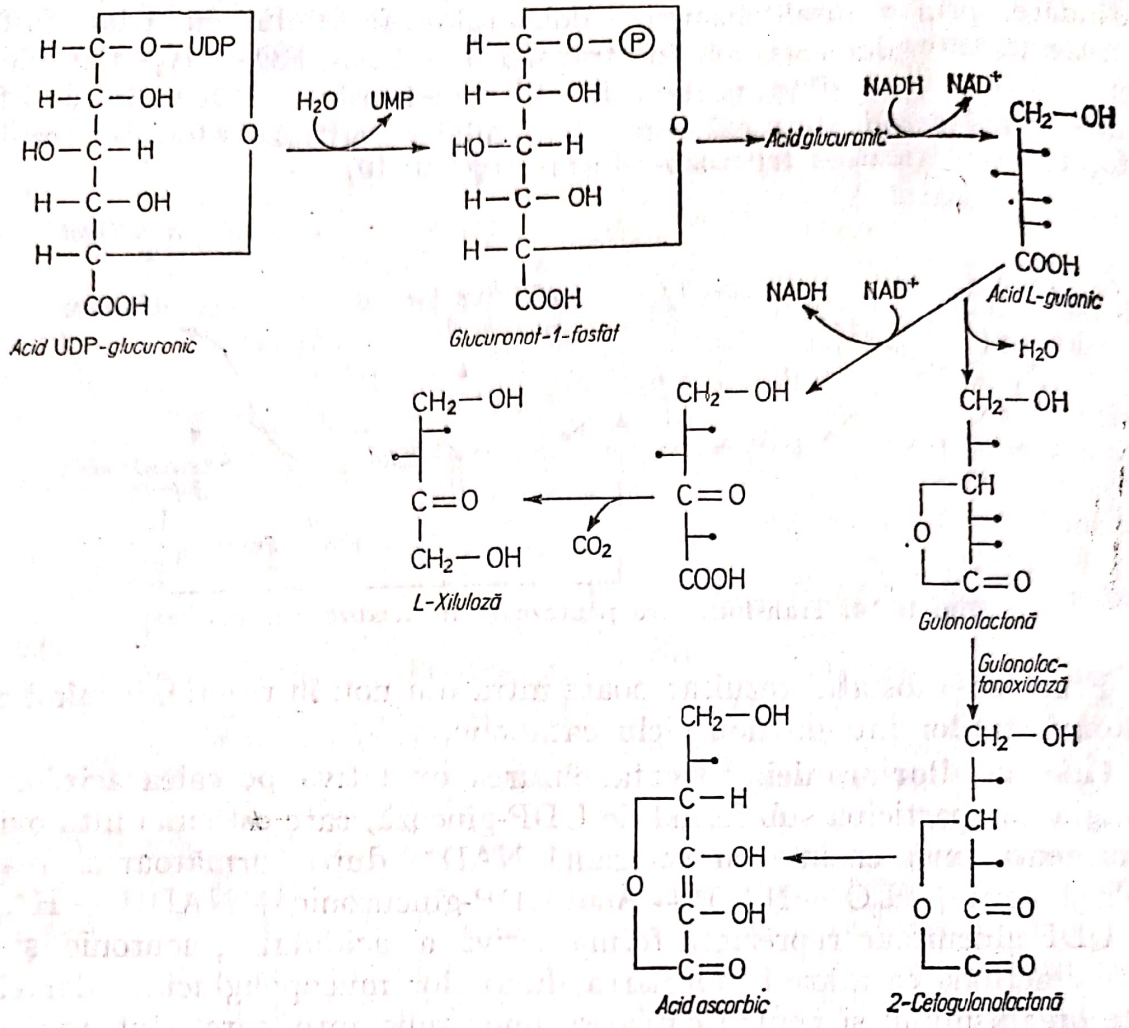


Fig. 10.11. Catabolizarea glucozei pe calea acizilor uronici.

10.4.3. ANABOLISMUL GLUCIDELOR

Forma de rezervă a glucidelor în organismele animale o constituie glicogenul. Sediul de formare și de catabolizare a acestei poliglucide este ficatul, iar rezervele se realizează atît în ficat, cît și în mușchi. Țesutul hepatic conține 3—5% glicogen, iar cel muscular 0,3—0,9%. Depozitul total în glicogen în organism este de circa 350 g. Formarea glicogenului din monoglucide poartă denumirea de *glicogeneză*, iar din compuși neglucidici (lipide, protide) de *gliconeogeneză*. Indiferent de punctul de plecare a biosintezei glicogenului este obligatorie formarea glucozo-1-fosfatului, de la care apoi prin reacții de transglucozilare se ajunge la formarea macromoleculelor de glicogen.

Biosinteza glicogenului este stimulată de numeroși hormoni, cum sînt ACTH, TSH, insulina și alții. Rolul principal, ca inductor hormonal, îi revine AMP-ciclic, care activează enzimele participante. Formarea glucozo-1-fosfatului în organismele animale are loc din glucoza provenită din diferiți precursori metabolici.

Anabolismul glucozei. La carnivore, rumegătoare și omnivore, consumul mare de glucoză în scopuri energetice poate depăși cantitatea luată prin intermediul hranei. În asemenea condiții, organismele sînt nevoite să-și sintetizeze singure o parte din glucoză. Biosinteza glucozei se poate realiza din diferiți

Scanned with OKEN Scanner

compuși, și anume: din alte glucide, procesul fiind denumit *glucogeneză*, din produși de metabolizare ai glucidelor și din substanțe de natură neglucidică (lipide și protide), în care procesul este denumit *gluconeogeneză*.

Gluconeogeneză. Gluconeogeneza reprezintă procesul de formare a glucozei din alte substanțe decît glucide, și anume din lipide și protide, dar îndeosebi din aminoacizi glucoformatori și din acid lactic (fig. 10.12). În acest proces participă o mare varietate de precursori.

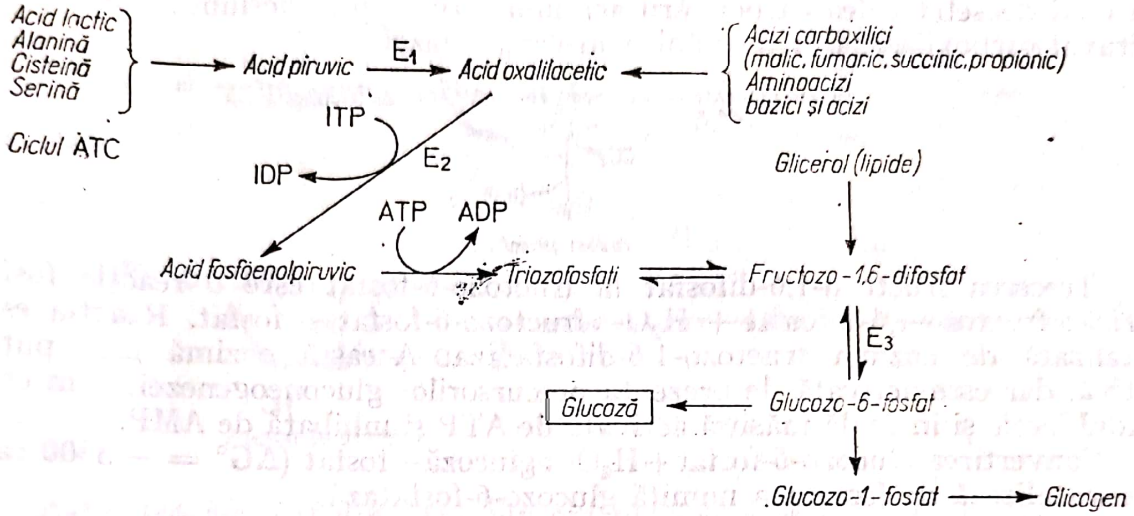
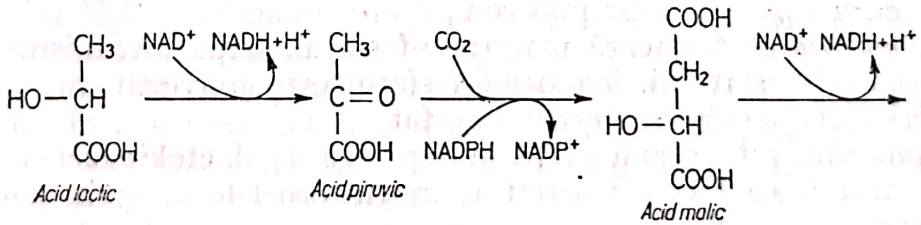
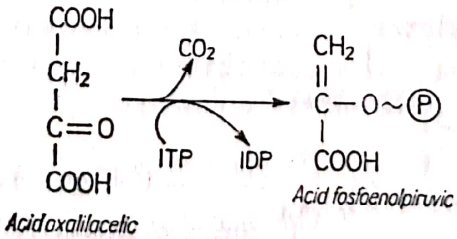


Fig. 10.12. Etapele gluconeogenezei.

Multă vreme s-a considerat că gluconeogeneza din acid lactic constă într-o inversare a procesului de glicoliză, întrucît enzimele implicate cataboliza reversibil ambele procese și au loc la nivelul ficatului, iar metaboliții lor au multe puncte comune. Cercetările din ultimii ani au dovedit însă că cele două procese necesită pe lîngă unele enzime comune și enzime specifice. Pentru gluconeogeneză enzimele specifice sînt: piruvat-carboxilaza (E_1), fosfoenol-piruvat-carboxikinaza (E_2) și fructozo-difosfataza (E_3). Etapele procesului de gluconeogeneză de la acidul fosfoenolpiruvic pînă la fructozo-1,6-difosfat decurg ca și în glicoliză doar că sînt inversate. Deosebirea constă în etapele ce au loc de la acidul lactic la acidul fosfoenolpiruvic:



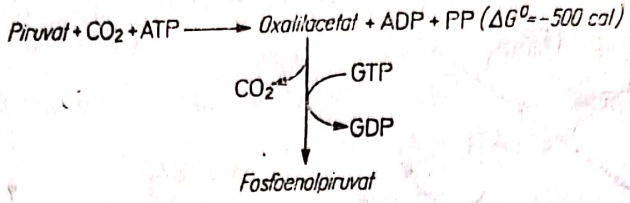


În această transformare donorul de fosfat este inozintrifosfat (ITP). Trecerea acidului piruvic în acid fosfoenolpiruvic se face pe o cale ocolită, dar indispensabilă. Trecerea directă ar necesita mari cantități de ATP. Etapa de trecere a fosfoenolpiruvat la triozfosfat, care comportă oxidoreducerea fosforilantă, este reversibilă cu condiția ca să fie prezent ATP și NADH.

Scanned with OKEN Scanner

Pe plan energetic există trei reacții ale glicolizei care sînt în mod practic ireversibile, și anume: piruvat → fosfoenolpiruvat; fructozo-1,6-difosfat → → fructozo-6-fosfat și glucozo-6-fosfat → glucoză.

Fosforilarea acidului piruvic este dificilă de realizat în mod direct. Acțiunea biocatalitică a piruvatkinazei este reversibilă dar foarte slabă în sensul: piruvat + ATP → fosfoenolpiruvat ($\Delta G° = +7500$ cal). Ficatul utilizează în mod deosebit calea carboxilării acidului piruvic prin acțiuni succesive ale piruvat-carboxilazei și fosfoenolpiruvat-carboxilazei:



Trecerea fructozo-1,6-difosfat la fructozo-6-fosfat este o reacție fosfatazică: fructozo-1,6-difosfat + H_2O ▷ fructozo-6-fosfat + fosfat. Reacția este catalizată de enzima fructozo-1,6-difosfataza. Această enzimă este puțin activă, dar este activată de prezența precursorilor gluconeogenezei, cum este acidul lactic și în egală măsură activată de ATP și inhibată de AMP.

Convertirea glucozo-6-fosfat + H_2O ▷ glucoză + fosfat ($\Delta G° = -3300$ cal) este catalizată de fosfataza numită glucozo-6-fosfatază.

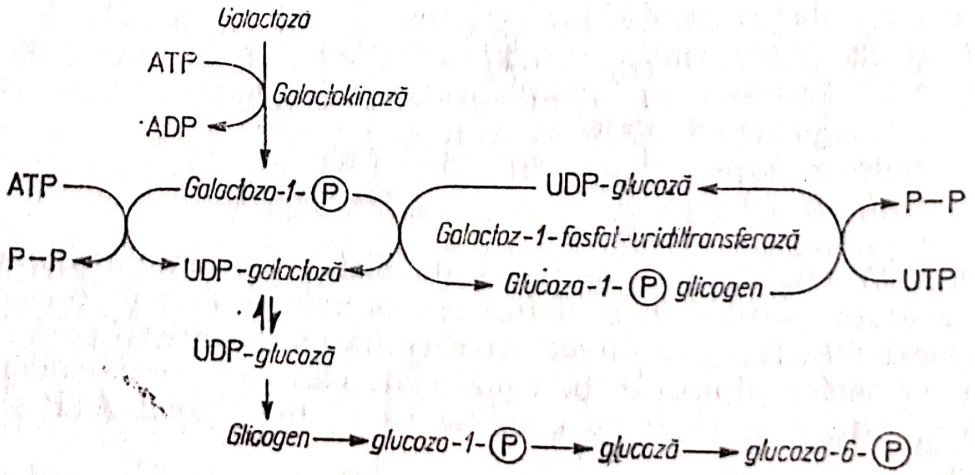
Enzimele necesare gluconeogenezei sînt induse de cortizol și reprimate de insulină.

În reglarea gluconeogenezei un rol determinant îl au procesele: glicogeneza, care are loc în glicoliza anaerobă lactacidogenă, fapt ce permite regenerarea glicogenului ce a fost degradat în timpul travaliului muscular; gluconeogeneza, care are loc în hipersecreția de cortizol; gluconeogeneza, care are loc în condiții de insuficiență glucidică.

Glucogeneza sau biosinteza glucozei din alte oze. Animalele preiau prin intermediul hranei și alte glucide pe care, în ficat, le pot transforma în glucoză. În acest fel se asigură formarea de glicogen, respectiv glicemia. Pentozele pot fi convertite în glucoză pe calea ciclului pentozofosfaților. Diferitele hexoze pot fi transformate în glucoză prin procese de izomerizare, de epimerizare și în unele cazuri prin procese mai complicate.

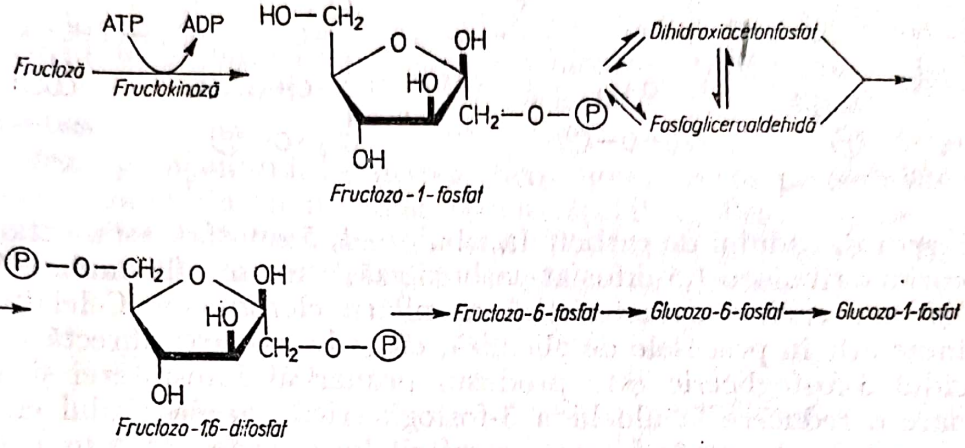
De la *manoză* se formează manozo-6-fosfatul, după mecanismul de formare a glucozo-6-fosfatului. Manozo-6-fosfatul este convertit în fructozo-6-fosfat și acesta izomerizat în glucozo-6-fosfat.

Din *galactoză*, sub acțiunea ATP și în prezența galactokinazei se formează galactozo-1-fosfat, care este izomerizat în glucozo-1-fosfat prin participarea UDP-glucozei;



Scanned with OKEN Scanner

În cazul cînd sinteza pleacă de la *fructoză*, aceasta este fosforilată în prezența ATP, fructokinazei și Mg^{2+} la fructozo-1-fosfat, care este scindat în fosfogliceroaldehidă și dihidroxiacetonfosfat în prezența aldolazei hepatice (fosfofructoz-aldolază). Din aceste două trioze se sintetizează glucozo-1-fosfat după următorul mecanism:



Formarea glucozei din CO_2. Sinteza glucidelor din substanțe anorganice se realizează în plante, prin procesul numit *fotosinteză* sau asimilația clorofiliană. Este cel mai important proces biochimic atît sub aspect calitativ, cît și cantitativ, deoarece celelalte organisme care nu sînt capabile de fotosinteză utilizează pentru transformările lor metabolice substanțele organice rezultate în fotosinteză. Așa se explică faptul că animalele, omul și alte organisme heterotrofe sînt dependente de cele autotrofe. Prin procesul de fotosinteză are loc sinteza glucidelor din CO_2, H_2O și energie, eliberînd oxigen, conform ecuației globale:

$$n\,CO_2 + m\,H_2O + \xrightarrow{+vh} C_nH_{2m}O_m + nO_2$$

La un mol de CO_2 consumat se eliberează o moleculă de O_2. Reacția dintre CO_2 și H_2O este endergonică și este întreținută de energia furnizată de radiațiile solare absorbite.

Fotosinteza este un proces fizico-chimic și biochimic complex, care a fost elucidat în mare măsură, dar numai în ultimii ani, datorită mijloacelor moderne de cercetare. În fotosinteză se disting două laturi fundamentale: una privind *captarea și convertirea energiei luminoase în energie chimică* de către complexul de pigmenți din cloroplaste (clorofile și carotinoide), specializat în acest sens și transmiterea acestei energii reacțiilor fotochimice, și alta privind *mecanismul conversiei reductive* a CO_2 în glucide.

Puterea de asimilare CO_2 este strîns legată de fotoliza apei:

$$4\,NADP^+ + 2\,H_2O \rightarrow 4\,(NADPH + H^+) + O_2$$

și de ATP sintetizat prin fosforilarea din ADP:

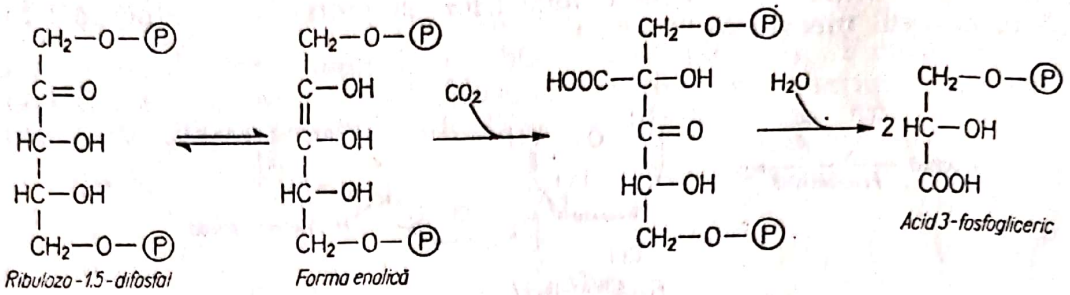
$$3\,ADP + 3\,H_3PO_4 \rightarrow 3\,ATP + 3\,H_2O$$

Aceste procese sînt cele care consumă energia solară.

Mecanismul conversiei reductive a CO_2 în glucide are următoarele etape principale: legarea dioxidului de carbon, reducerea la triozofosfați, regenerarea ribulozo-1,5-difosfatului și formarea poliglucidelor din monoglucide.

Scanned with OKEN Scanner

În procesul de fotosinteză, dioxidul de carbon este fixat de către ribulozo-1,5-difosfat, în formă enolică, cu care formează un compus carboxilic intermediar, numit 2-carboxi-3-cetopentitol-1,5-difosfat din care rezultă apoi acidul 3-fosfogliceric:



Fixarea dioxidului de carbon la ribulozo-1, 5-difosfat este catalizată de către enzima ribulozo-1,5-difosfat-carboxilază, care se află numai în cloroplaste și este enzima caracteristică asimilării clorofiliene. Celelalte enzime se întîlnesc atît în procesele de glicoliză, cît și în oxidarea directă a glucozei.

Acidul 3-fosfogliceric este produsul primar al fotosintezei și suferă în continuare o reducere la aldehida 3-fosfoglicerică, care la rîndul ei, servește atît ca punct de plecare în biosinteza diferitelor glucide, cît și în regenerarea ribulozo-1,5-difosfatului.

Formarea glucozei din aldehida 3-fosfoglicerică decurge prin inversarea succesiunilor de reacții ce au loc în procesul de glicoliză, în care glucoza este transformată în aldehida 3-fosfoglicerică. Această aldehidă este izomerizată în dihidroxiacetonfosfat. Prin condensarea acestor două trioze rezultă: fructozo-1,5-difosfat, fructozo-6-fosfat, glucozo-1-fosfat și în cele din urmă glucoză. Glucoza este produsul de plecare în sinteza diglucidelor și a poliglucidelor din plante.

Regenerarea ribulozo-1,5-difosfatului din aldehida 3-fosfoglicerică are ca punct de plecare, de asemenea, fructozo-1,6-difosfatul rezultat din triozofosfați. În continuare, fructozo-1,6-difosfatul reacționează cu esterii triozofosforici, regenerînd ribulozo-1,5-difosfatul, printr-un mecanism asemănător, dar în sens invers aceluia prin care pentozele sînt convertite în hexoze. Rezultă deci faptul că în regenerarea ribulozo-1,5-difosfatului reacțiile sînt de același tip ca cele ce au loc la degradarea glucozei pe calea pentozofosfaților. Procesul fotosintezei este deci ciclic (fig. 10.13).

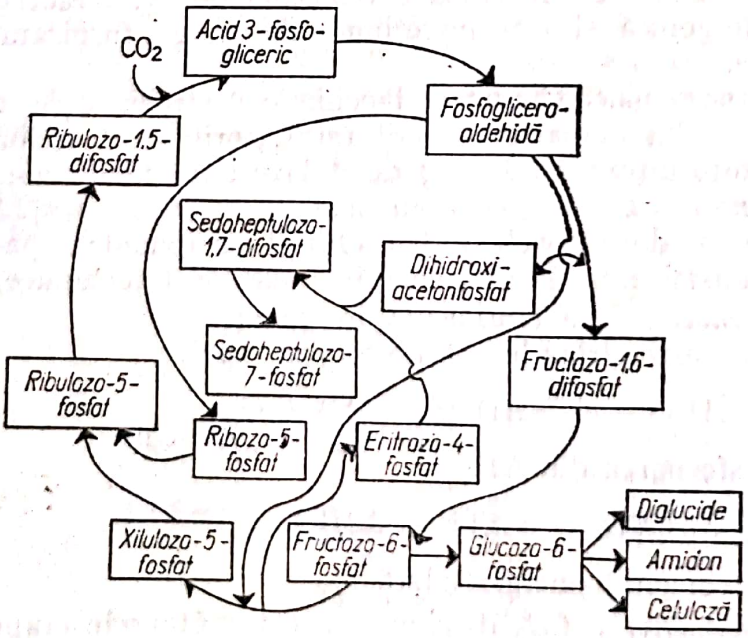


Fig. 10.13. Procesul de fotosinteză.

Produșii rezultați în procesul de fotosinteză au fost puși în evidență prin experiențe cu CO_2 marcat cu ^{14}C. Viteza de parcurgere a ciclului fotosintetic este remarca-

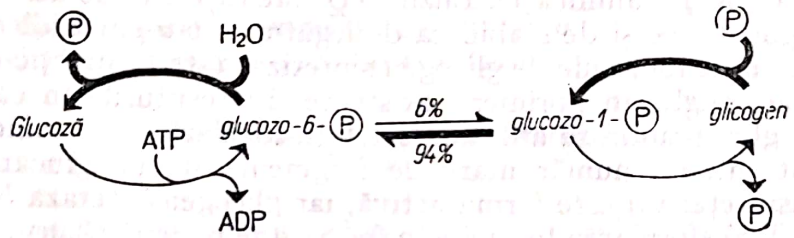
Scanned with OKEN Scanner

bilă, fapt confirmat de punerea în evidență a produșilor procesului după numai aproximativ 10 secunde.

Efectuînd bilanțul carbonului utilizat, sub formă de CO_2, la formarea unei singure molecule de hexoză sînt necesare să intre în circuit șase molecule de CO_2, conform ecuației:

$$6\ CO_2 + 6\ \text{Ribulozo-1,5-difosfat} \xrightarrow[6\ NADPH]{ATP} \text{Glucozo-6-fosfat} + 6\ \text{Ribulozo-1,5-difosfat}$$

Biosinteza glicogenului. Formarea glicogenului este un proces endergonic, care se realizează sub acțiunea unor enzime specifice. Pentru formarea unei legături glicozidice sînt necesare 4,2 kcal. Biosinteza glicogenului în celule utilizează glucozo-1-fosfat, el însuși în echilibru cu glucozo-6-fosfat.



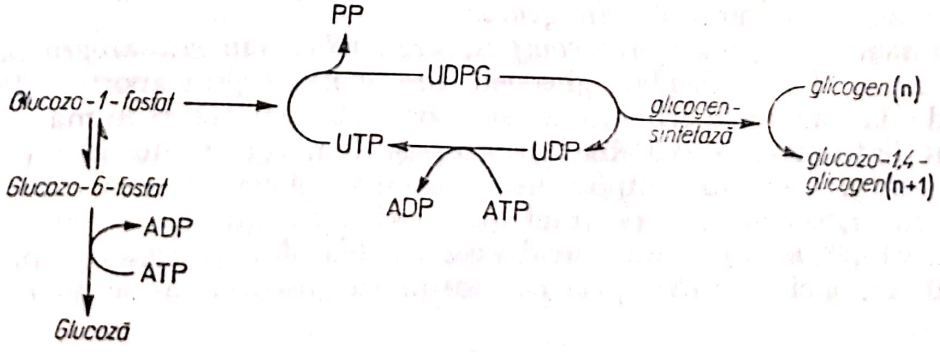
Glucozo-6-fosfatul provine din glucoza circulantă sau din alte oze sau compuși glucoformatori.

Glicogenogeneza sau transglucozilarea. Glicogenogeneza constă în transferul a cîte o moleculă de glucozo-1-fosfat sau de UDP-glucoză pe un rest poliglucidic, în care moleculele de α-glucoză sînt legate 1,4-α-glicozidic. În acest fel se ajunge la un lanț poliglucidic. La intervenția Q-enzimei catena se ramifică prin formarea de legături 1,6-α-glicozidice.

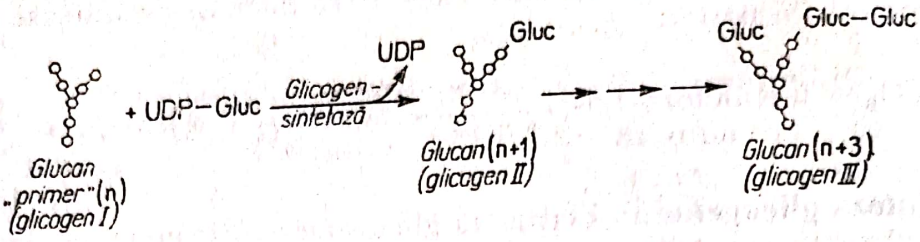
Procesul de transglucozilare se realizează pe două căi:

— Prima cale constă în fixarea glucozei din glucozo-1-fosfat la capătul nereducător al catenei poliglucidice preexistente, în prezența glicogensintetazei. Această cale este limitată deoarece concentrația în glucozo-1-fosfat este prea mică pentru a determina o sinteză continuă , pe măsura necesarului organismului.

— A doua cale se realizează din glucozo-1-fosfat și UTP(uridintrifosfat) în prezența uridintransferazei. Se formează UDP-glucoză (UDPG), care se cuplează apoi la catena nereducătoare a unei molecule de glicogen sau poliglucan „primer", în prezența glicogensintetazei și eliberarea de UDP.

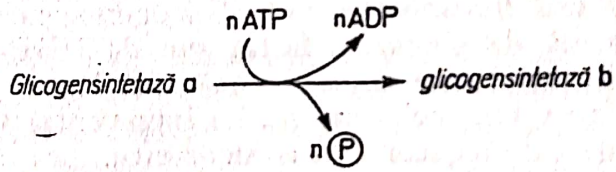


În acest fel se pot forma numai catene de tip maltozic, neramificate, pe care apoi enzima specifică, Q-enzima, le transformă, prin izomerizare, în catene puternic ramificate. Fixarea restului de glucoză din UDP-Gluc pe catena poliglucanului „primer" sau glicogen „primer" poate fi redată astfel:



Glicogensintetaza este o enzimă de transglicozilare. Ramificațiile poliglucanului „primer" cresc cu cîte o unitate glucozil, iar după ce ramificațiile ajung la o lungime de cel puțin opt unități de glucoză intervine Q-enzima, care realizează o nouă ramificație. Enzima-Q este capabilă de desfacerea legăturilor 1,4-α-glicozidice și de stabilirea de legături 1,6-α-glicozidice. Este evident că numărul de molecule de glicogen sintetizat este în funcție de numărul moleculelor de poliglucan „primer" existente. În țesuturile în care se realizează sinteza glicogenului se află amilo-1,4-glucozidază, care scindează glicogenul prezent într-un număr mare de fragmente de poliglucan „primer".

Glicogensintetaza *a* este forma activă, iar glicogensintetaza *b* este forma puțin activă. Transformarea formei *a* în formă *b* se realizează printr-un proces de fosforilare sub acțiunea ATP în prezența adrenalinei și AMP-ciclic, care sînt activatori ai fosforilării:



Procesul de trecere a formei *b* în forma *a* este stimulat de insulină (v. „Hormoni"). În general, factorii care intervin în transformarea formei *a* în formă *b* și invers au un efect contrar. De aici decurge faptul că în biosinteza și scindarea glicogenului intervin enzime specifice, care au efecte contrare asupra celor două procese.

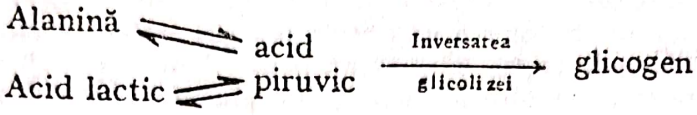
Glicogenogeneza se desfășoară intens în ficat și în mușchi și mai puțin intens în alte țesuturi. Pentru sinteza a 50 g glicogen se consumă energia furnizată la oxidarea a 5,3 g glucoză, ceea ce corespunde la circa 10 % din cantitatea de glicogen depozitat.

În condiții patologice pot apărea modificări cantitative și calitative ale glicogenului, cu formarea de dextrine sau amilodextrine. Tulburările sînt cunoscute sub denumirea de *glicogenoze*.

Biosinteza glicogenului din compuși neglucidici sau gliconeogeneza. Dacă la unele animale necesarul de glicogen este acoperit prin aportul alimentar de glucide, la animalele erbivore acest aport este mai mic și în mare măsură este adus de formarea glucidelor din compuși de natură neglucidică (v. „Gluconeogeneza"). Cele mai importante substanțe glicoformatoare sînt acizii: lactic, piruvic, succinic, citric, unii aminoacizi, ca: glicocol, alanină, serină, treonină, valină, acid glutamic, acid aspartic, histidină și arginină, precum și glicerolul. De aici rezultă faptul că biosinteza glicogenului se poate realiza

Scanned with OKEN Scanner

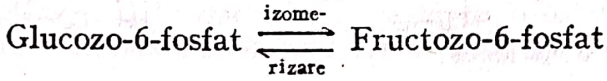
în organismul animal din diferite protide (100 g proteine produc în medie 58 g glucoză; diferența de 42 g reprezintă aminoacizii neglucoformatori). Dintre compușii neazotați, cel mai important substrat este acidul lactic. Formarea glicogenului din alanină și din acid lactic decurge principial, în felul următor:



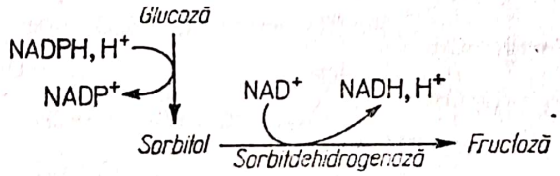
10.4.4. METABOLISMUL FRUCTOZEI

În organismul animal, fructoza este o hexoză specifică plasmei seminale și constituie rezerva energetică necesară mobilității spermatozoizilor. În boli infecțioase, fructoza contribuie la mărirea rezervei de glicogen și în acest mod protejează celulele hepatice. De asemenea, fructoza mărește glicemia.

Formarea fructozei în organismele animale se realizează în veziculele seminale avînd ca precursor glucozo-6-fosfatul:



Fructoza se poate forma și din sorbitol, conform următoarei reacții: Pe această cale se formează fructoza în lichidul seminal și în sîngele fetal.

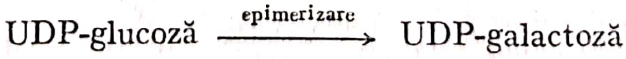


Catabolizarea fructozei se realizează în ficat și decurge mai repede decît catabolizarea glucozei. Punctul de plecare îl constituie fructozo-1-fosfatul, care este scindat în triozofosfați, de unde etapele sînt aceleași ca în catabolizarea glucozei.

10.4.5. METABOLISMUL GALACTOZEI

Galactoza este o componentă a unor poliglucide naturale, iar în stare liberă în organism nu se găsește decît în cantități mici. Ea are un metabolism strîns legat de cel al glucozei, putînd urma calea glicolizei, sau să dea naștere la glicerol etc.

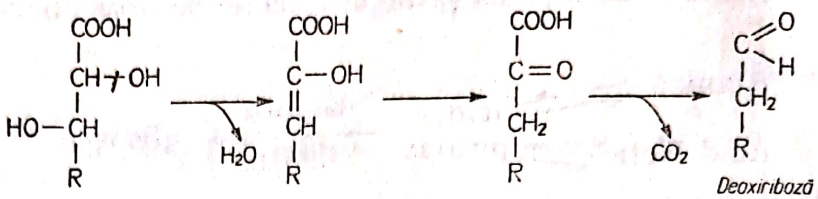
În organismele animale galactoza se formează din glucoză, după reacția:



Galactoza se catabolizează mai greu decît glucoza, din acest motiv ea se află în cantitate mai mare în țesuturile de susținere. În cazul cînd galactoza nu este catabolizată ea se acumulează în hematii sub formă de galactozo-1-fosfat, producînd galactozemia, boală ce poate produce chiar moartea. Această boală este întîlnită rar și numai la tineret.

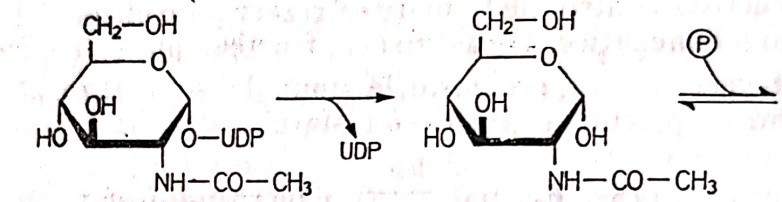
Scanned with OKEN Scanner

Metabolismul deoxiglucidelor. *Biosinteza* deoxiglucidelor decurge adeseori printr-un intermediar carboxilic α, β — nesaturat. Astfel, de la acidul fosfogluconic, prin deshidratare rezultă 2-ceto-3-deoxifosfogluconat, de la care prin decarboxilare se ajunge la deoxiriboză.

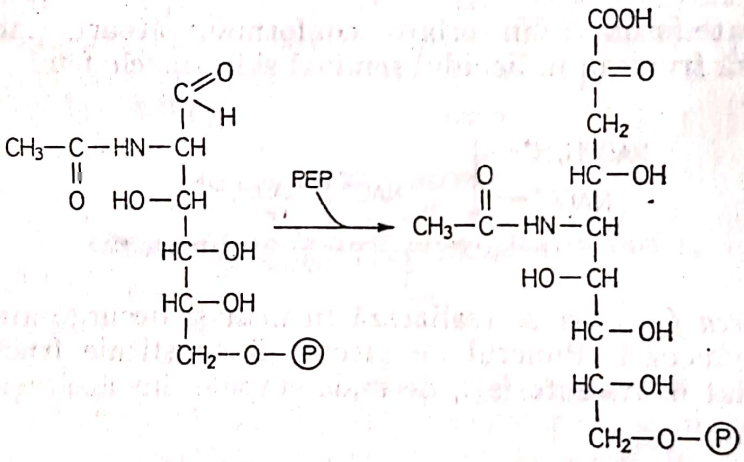


Acid fosfogluconic

Acidul neuraminic se formează din UDP-glucozamină-N-acetilată, care este epimerizată la N-acetilmanozamină. Aceasta din urmă se unește cu acid fosfoenolpiruvic (PEP):

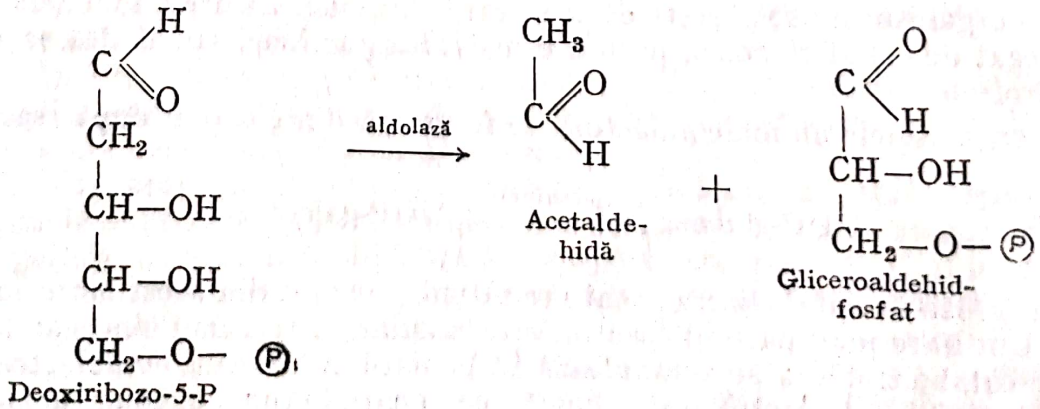


UDP-N-acetilglucozamină



Acid neuraminic fosforilat

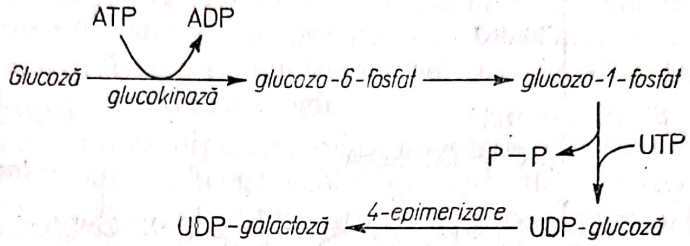
Catabolismul deoxiglucidelor decurge printr-un proces de scindare sub acțiunea unor aldolaze specifice. Astfel, deoxiribozo-5-fosfatul este scindat în acetaldehidă și gliceroaldehid-3-fosfat:



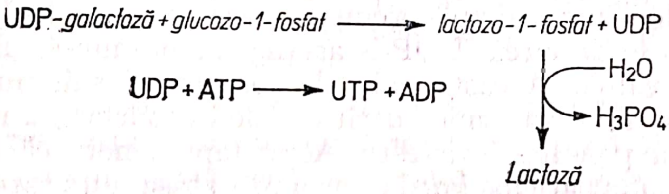
Deoxiribozo-5-P

10.4.6. METABOLISMUL DIGLUCIDELOR

Formarea diglucidelor care constituie principalele oligoglucide din organismele animale, se realizează printr-un proces de transglicolizare. Principalul diglucid din organismul animal este *lactoza*. Acest glucid se formează în glanda mamară, avînd ca precursor glucoza adusă pe cale sanguină. Mai întîi glucoza este fosforilată, iar o parte este activată ca UDP-glucoză, care este izomerizată la UDP-galactoză, sub acțiunea 4-epimerazei, conform următorului mecanism:



În urma cuplării UDP-galactozei cu glucozo-1-fosfat se stabilește legătura 1,4-β-glicozidică în lactozo-1-fosfat, iar aceasta din urmă este apoi hidrolizată la lactoză.



Bilanțul energetic al biosintezei constă dintr-un consum de trei moli de ATP pentru un mol de lactoză, după cum reiese din ecuația globală:

$$2 \text{ Glucoză} + 3 \text{ ATP} + 2 \text{ H}_2\text{O} \rightarrow \text{lactoză} + 3 \text{ ADP} + 3 \text{ fosfat}$$

UDP-galactoza se formează și în ficat. Acest fapt este deosebit de important întrucît galactoza este necesară pentru sinteza lipidelor complexe, cum sînt cerebrozidele, precum și în sinteza mucopoliglucidelor constituite din galactozamină sau derivați ai acesteia.

10.4.7. METABOLISMUL MUCOPOLIGLUCIDELOR

Biosinteza mucopoliglucidelor decurge în mod analog formării celorlalte poliglucide. De exemplu, în biosinteza acidului hialuronic, format din resturi de acid glucuronic și de N-acetil-glucozamină, alternîndu-se aceste două resturi de hexoze, se vor stabili succesiv legături glicozidice prin participarea acidului UDP-glucuronic și a UDP-N-acetil-glucozaminei.

Precursorul acidului UDP-glucuronic și al N-acetil-glucozaminei îl constituie glucoza. În formarea N-acetilglucozaminei mecanismul constă în fosforilarea glucozei la glucozo-6-fosfat, aminarea acesteia de către glutamină la glucozamin-6-fosfat și apoi acetilarea la gruparea amină. Etapele acestei biosinteze sînt redate în figura 10.14.

Scanned with OKEN Scanner

Biosinteza altor mucopoliglucide decurge în mod asemănător, doar că aminoglucidul este altul decît N-acetilglucozamina și de asemenea enzimele implicate sînt diferite, fiind specifice componentei glucidice.

În biosinteza sulfomucopoliglucidelor, care conțin în molecula lor legături esterice — OSO_3H și legături sulfonamidice —$NHSO_3H$, participă compusul macroergic cu sulf denumit adenozin-3-fosfo-5-fosfosulfat (APPS),

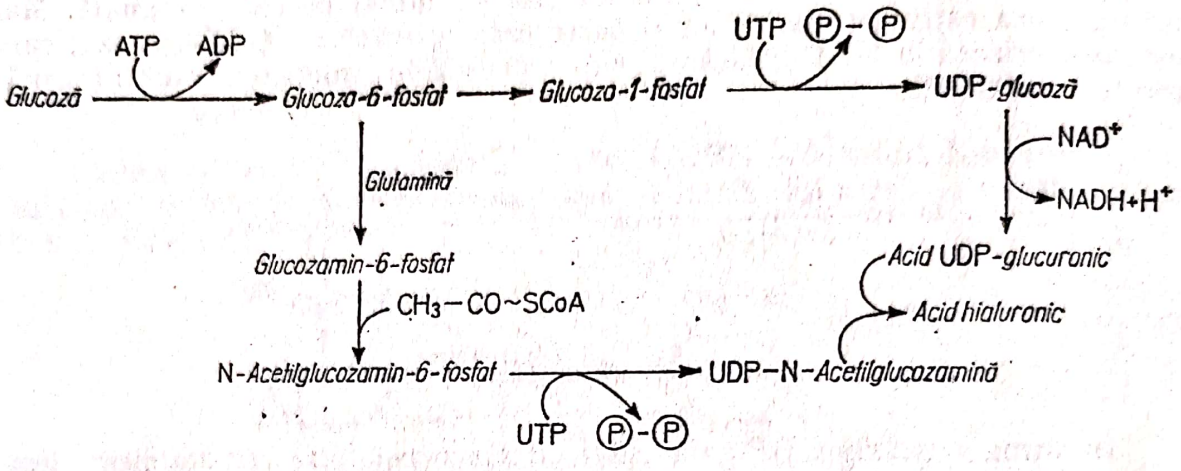


Fig. 10.14. Biosinteza acidului hialuronic.

capabil de a ceda restul sulfat. Privitor la etapa de sulfonare există indicații că aceasta are loc într-o etapă premergătoare stabilirii legăturii glicozidice, fapt confirmat de izolarea UDP-N-acetilgalactozamin-4-sulfat din țesutul oviductului de găină. Această cale de formare a sulfomucopoliglucidelor decurge cu viteză mult mai mică decît cea de introducere a restului sulfat pe măsură ce lanțul poliglucidic crește. Acest fapt denotă că în mod frecvent fixarea restului sulfat are loc imediat ce a fost atașată unitatea N-acetil-hexozaminică și deci înaintea legării unității următoare de acid glucuronic. Uniformitatea relativă a sulfomucopoliglucidelor confirmă acest mecanism. Pentru formarea sulfomucopoliglucidelor mai bogate în resturi sulfat, cum este heparina, mecanismul este mai complex. Aici, cel de-al doilea rest de sulfat este fixat după ce a avut loc formarea macromoleculei. Desigur, încorporarea restului sulfat pe macromoleculă decurge cu viteză mult mai redusă și este mai neuniformă.

10.4.8. REGLAREA ȘI DEREGLAREA METABOLISMULUI GLUCIDELOR. GLICEMIA

Concentrația normală în glucoză a sîngelui sau glicemia se menține în condiții fiziologice la valori relativ constante (80—120 mg %), datorită echilibrului care există între procesele metabolice consumatoare și producătoare de glucoză și sistemele de reglare a metabolismului general al glucidelor. Aprovizionarea sîngelui cu glucoză este asigurată prin activarea glicogenolizei hepatice. Astfel că, deși asupra glicemiei se exercită multiple cauze exterioare (supraalimentație cu glucide, efort fizic, inaniție) și interioare (glicogenoliză și gluconeogeneză), care ar trebui să modifice valorile ei, acest lucru nu se realizează datorită unor sisteme riguroase de reglare a echilibrului dintre viteza de depozitare ca glicogen și viteza de eliberare din glicogenul hepatic.

Procesele metabolice care duc la consumarea glucozei și deci la micșorarea glicemiei sînt: transformarea glucozei în glicogen, transformarea glucozei

Scanned with OKEN Scanner

în lipide, degradarea glucozei și eliminarea în urină în cazuri patologice (glucozurie). De aici rezultă faptul că ceea ce declanșează sistemele glucoreglatoare este nivelul glicemiei. Variațiile glicemiei sînt în sensul unei creșteri sau scăderi, de aceea sistemele de reglare trebuie să exercite acțiune în sensul frînării mecanismelor de creștere a glicemiei, respectiv de scădere a valorii ei. Mecanismele de reglare se pot deci grupa în două categorii: mecanisme prin acțiune hipoglicemiantă și hiperglicemiantă, mecanisme care sînt antagoniste. Aceste mecanisme sînt controlate de anumiți hormoni, iar un rol hotărîtor în menținerea și reglarea glicemiei îi revine ficatului.

În reglarea prin acțiune hipoglicemiantă intervine hormonul insulină, care își manifestă influența: la nivelul permeabilității celulare, la fosforilarea glucozei în glucozo-6-fosfat și asupra glucozo-6-fosfatazei. Tot o acțiune de reglare hipoglicemiantă este și eliminarea pe cale renală a glucozei, fenomen ce intervine în hipoglicemiile patologice.

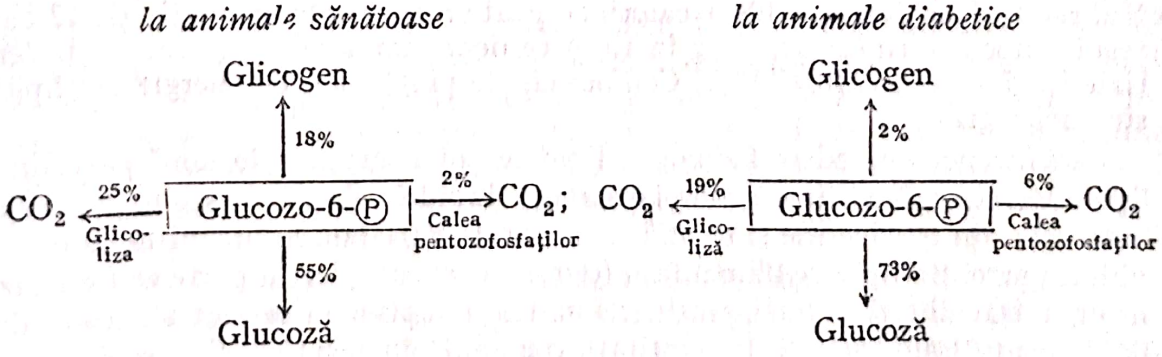
Reglarea prin acțiune hiperglicemiantă constă în intervenția stimulatorie a anumitor factori asupra glicogenezei și glicogenolizei hepatice și musculare, precum și asupra utilizării glucozei. Hormonii care stimulează aceste procese sînt: adrenalina, glucagonul, hormonii adenohipofizari, hormonii glucocorticosteroizi și hormonii tiroidieni. Pe lîngă reglarea hormonală, un rol însemnat îl are reglarea pe cale nervoasă, care influențează activitatea ficatului și a diferiților hormoni.

În unele cazuri mecanismul de menținere a echilibrului metabolismului glucidelor este dereglat, fie datorită unor dereglări hormonale, fie ca urmare a unor modificări genetice. Acestea duc la apariția unor tulburări în organism, dintre care se menționează doar cîteva.

Diabetul. Este o tulburare care constă în incapacitatea organismului de a utiliza glucoza, respectiv nu se realizează reacția: glucoză→glucozo-6-fosfat. În acest echilibru este implicată insulina (nivelul ei scăzut sau lipsa ei totală; v. Hormoni pancreatici).

Acțiunea insulinei se exercită în general asupra sistemelor enzimatice care catalizează reacțiile de metabolizare a glucidelor. Insulina activează hexokinaza, enzimă ce catalizează transformarea glucozei în glucozo-6-fosfat.

La animalele sănătoase procesul de convertire a glucozo-6-fosfatului decurge în mod diferit față de cel care se realizează la animalele cu diabet:



În ficat, rinichi, mușchi și creier se găsește enzima insulinază, care inactivează insulina. În acest mod se explică faptul că insulina nu remediază totdeauna aspectele patologice ale diabetului. Diabetul apare la următoarele specii: cabaline, taurine, ovine, suine și canine, dar mai frecvent la om.

Scanned with OKEN Scanner

Pe cale biochimică diabetul se manifestă prin:

Hiperglicemie, care apare din cauza dezechilibrului transformărilor metabolice ale glucozei (glicoliză și glicogenogeneză) ce cauzează o mărire a concentrației glucozei în sînge și în urină.

Cetonemia și lipemia sînt cauzate de o restrîngere a glicolizei, o mobilizare crescîndă a lipidelor de rezervă și o creștere a concentrației acestora în sînge (hipergliceridemie). Totodată are loc o inhibare a enzimelor insulin-dependente care participă la biosinteza acizilor grași. În acest fel se creează condiții favorabile acumulării de acetil-CoA, care duce în final la apariția corpilor cetonici.

Modificări în compoziția urinei cu apariția de corpi cetonici, glucoză, electroliți, uree (uremie), proteine (proteinurie), densitate mare, *p*H scăzut.

Modificări în echilibrul electroliților cu pierderea de cantități relativ mari de apă și diferite săruri.

Hipoglicemia. Hipoglicemia apare mai frecvent la purcei. Acest efect este cauzat de inhibarea gluconeogenezei.

Glicogenozele. În cazuri patologice pot apărea modificări cantitative ale glicogenului, care constau într-o depozitare anormală a glicogenului în ficat, în mușchi, în inimă sau modificări de natură calitativă ce constau în apariția unor forme anormale de glicogen, de tipul dextrinelor. Mai frecvent întîlnită este glicogenoza, care este legată de deficitul în primul rînd al enzimei glucozo-6-fosfatazei în rinichi și în ficat și constă în depozitarea de glicogen. De asemenea, în glicogenoză deficiența include și enzimele: fosfofructokinaza din mușchi, fosforilazkinaza și fosforilaza din ficat. Glicogenozele sînt boli de natură ereditară și au aceeași cauză esențială, și anume: inhibarea glicolizei.

10.5. METABOLISMUL LIPIDELOR

Pentru organismele animale, lipidele reprezintă o rezervă energetică deosebită. Este suficient să se arate că 1 g de lipide produc 9,3 kilocalorii (9300 calorii) în timp ce 1 g de glucide sau protide doar 4,3 kilocalorii (4300 calorii). Mai mult, depozitarea a 100 g calorii se poate realiza într-un spațiu de 12 cm^3 țesut adipos ce cîntărește 11 g în timp ce depozitarea aceleiași energii potențiale în glucide necesită 130 g. Componentele purtătoare de energie din lipide sînt acizi grași.

Din punct de vedere fiziologic, lipidele pot fi grupate în două categorii: lipide de rezervă și lipide citoplasmatice. Lipidele de rezervă sînt alcătuite îndeosebi din trigliceride și se află în cantitate variabilă în organism. Ele provin în parte din lipidele alimentare (origine exogenă), iar în parte se formează în organism din glucide și protide. Lipidele citoplasmatice sînt alcătuite din lipide complexe și se află în cantitate constantă în țesuturi. Sistemul nervos este bogat în cerebrozide, sfingomieline, cefaline și colesterol. Ficatul este bogat mai ales în glicerofosfoaminolipide.

Sub formă de lipoproteide, lipidele contribuie la vehicularea unor substanțe biologice active, cum sînt vitaminele liposolubile, unii hormoni și carotinoidele, participînd în acest fel la procesele metabolice ale acestora.

Scanned with OKEN Scanner

În organismele animale, lipidele de rezervă joacă un rol de susținere, iar cele situate subcutanat îndeplinesc funcții de izolare termică și electrică. De asemenea, lipidele participă la structura membranelor celulare.

Avînd în vedere eterogenitatea lipidelor și că la structura lor participă totdeauna un compus alcoolic și cel puțin un acid gras, transformările lor metabolice vor fi expuse pe compartimente. Mai întîi vor fi prezentate principalele procese biochimice din decursul digestiei, absorbției, transportului și depozitării, după care se va studia metabolismul intermediar al acizilor grași și numai după aceea cel al diferitelor clase de lipide.

10.5.1. MECANISMUL DIGESTIEI, ABSORBȚIEI, VEHICULĂRII ȘI DEPOZITĂRII LIPIDELOR

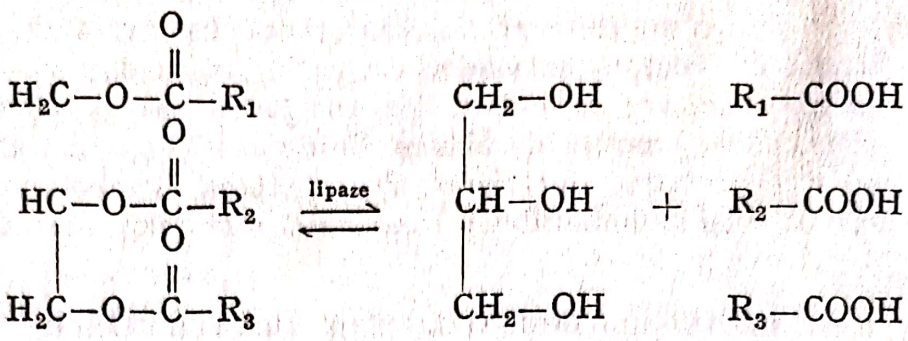
Întrucît lipidele sînt insolubile în apă și în lichidele din organism, ele prezintă anumite particularități în privința digestiei, absorbției, vehiculării și depozitării în organism. Un rol însemnat îl are emulsionarea, fapt ce deosebește procesul de digestie al glucidelor și protidelor de cel al lipidelor.

Digestia. Pe tractul digestiv lipidele alimentare suferă doar un început de digestie în stomac, unde se află lipaze, dar a căror acțiune este destul de limitată din cauză că lipidele sînt încă în mică măsură emulsionate și *p*H-ul prea acid al stomacului împiedică activitatea hidrolitică a lipazei. Sub acțiunea lipazelor sînt hidrolizate doar gliceridele, care constituie principalele lipide alimentare. Digestia lipidelor este diferită, în funcție de natura lor chimică. Sediul principal al digestiei este intestinul subțire. Digestia lor este dependentă de sucul intestinal, de sucul pancreatic și de bilă. Sucul intestinal este bogat în esteraze, enzime care scindează lipidele în componente, fapt ce atestă că sediul principal al digestiei lipidelor este intestinul subțire. Saliva este lipsită de lipaze, iar în stomac lipaza gastrică poate acționa numai limitat. Sucul pancreatic are un rol determinant în digestia lipidelor, datorită lipazei pe care o conține, precum și a alcalinității lui, care neutralizează *p*H-ul acid al chimului, permițînd în acest fel lipazei intestinale să-și exercite acțiunea sa hidrolitică. Rolul bilei în digestie constă în neutralizarea *p*H-ului acid al chimului gastric și în transformarea lipidelor într-o suspensie fină și stabilă. Neutralizarea *p*H-ului acid al chimului de către bilă este asigurat de alcalinitatea acesteia, ceea ce creează condiții favorabile acțiunii enzimelor. Rolul emulsionant al bilei este determinat de conținutul ei în acizi biliari. Acești acizi sînt puternic tensioactivi și au rol de activatori ai lipazelor. Starea de emulsie permite un contact mai intim între substrat și enzime. În cazul cînd lipsește bila sau se află în cantități mici hidroliza lipidelor se realizează defectuos, iar o parte din proteinele alimentare asociate cu lipide sînt sustrase de la digestie.

— *Digestia gliceridelor.* Principalele gliceride alimentare sînt trigliceridele, numite și grăsimi neutre. Digestia gliceridelor se realizează sub acțiunea lipazelor, în mică măsură sub acțiunea celor din sucul gastric și în mare măsură sub acțiunea celor din sucul intestinal, dar secretate de pancreas. Lipazele gastrice pot hidroliza numai grăsimile emulsionate, cum sînt cele din lapte, ceea ce denotă că aceste enzime au o mai mare însemnătate în alimentația sugarilor. Hidroliza enzimatică continuă sub acțiunea enzimelor

Scanned with OKEN Scanner

pancreatice, care le desfac întîi la digliceride, apoi la monogliceride și în final la glicerol și acizi grași.



Lipazele atacă mai întîi grupările esterice din poziția β și numai după aceea pe cele din poziția α. Hidroliza are loc în intestinul subțire și numai după ce gliceridele au fost emulsionate, iar chimul stomacal alcalinizat de către sucurile pancreatice și de bilă. O mare parte din acizii grași puși în libertate prin hidroliză se găsesc sub formă de săruri (săpunuri), ca urmare a reacției dintre acești acizi și bicarbonații alcalini din sucul pancreatic și sărurile alcaline ale acizilor biliari. Concentrația în săpunuri crește pe măsura avansării hidrolizei. Aceste săpunuri contribuie la emulsionarea gliceridelor încă nedigerate. În cea mai mare măsură gliceridele sînt însă emulsionate de acizii biliari din bilă, de ionii de Ca^{2+} și de proteinele existente în secreția biliară și pancreatică.

Acțiunea hidrolizantă a lipazelor intestinale și pancreatice este mult ușurată de suprafața specifică mare a gliceridelor emulsionate. Hidroliza gliceridelor este facilitată de prezența proteinelor degradate și îndeosebi de prezența ionilor de Ca^{2+}, care precipită proteinele pe suprafața picăturilor de lipide și face astfel o dispersare fină. Cea mai importantă lipază este lipaza pancreatică. Ea își exercită acțiunea hidrolitică asupra gliceridelor emulsionate în mediu apos, la un pH bazic (pH = 9), exercitînd acțiune cu precădere asupra gliceridelor care conțin acizi grași cu 14 atomi de carbon și mai ales asupra legăturilor esterice din poziția α a trigliceridelor. În acest fel rezultă o β-monogliceridă. Lipaza intestinală hidrolizează trigliceridele la pH optim situat la valoarea 7, dar în mod asemănător cu cea pancreatică. Deși s-ar părea că în condițiile arătate hidroliza gliceridelor se realizează complet la glicerol și acizi grași, cercetările din ultima vreme au demonstrat că ele sînt hidrolizate în componente numai în proporție de aproximativ 40%, iar restul de 60% sînt hidrolizate numai pînă la digliceride și monogliceride.

În general, digestia gliceridelor necesită un timp mai îndelungat, cu excepția celor care se află în hrană sub formă bine emulsionată, cum sînt cele din lapte. La alimentarea animalelor tinere cu produse industriale care substituie laptele natural este necesar să se asigure o bună emulsionare a preparatelor utilizate.

Toate aceste aspecte ale digestiei au loc la animalele monogastrice, în timp ce la animalele rumegătoare au loc procese mai profunde. Astfel, la rumegătoare, digestia lipidelor începe în prestomace sub acțiunea microorganismelor, suferind o predigestie, ce constă în reacții de hidroliză apreciabile a lipidelor simple și complexe. Dar, efectele acestor transformări sînt mai profunde. Astfel, glicerolul rezultat este transformat de către microorganisme în acizi carboxilici, îndeosebi în acid propionic, în timp ce acizii

Scanned with OKEN Scanner

grași își urmează drumul normal în aparatul digestiv. De asemenea, o acțiune importantă a microorganismelor din prestomace este aceea de hidrogenare a acizilor grași nesaturați și transformarea lor în acizi grași saturați, fapt ce se reflectă în scăderea proporției de acizi grași nesaturați, îndeosebi a celor polienici (linoleic, linolenic etc.) și în consecință mai mare a seului (grăsimea rumegătoarelor) în comparație cu grăsimea animalelor monogastrice. Totodată, sub acțiunea microorganismelor se realizează o sinteză apreciabilă de lipide proprii pe seama lipidelor alimentare.

— *Digestia fosfolipidelor.* Sub acțiunea sucului gastric nu are loc nici o transformare a fosfolipidelor, astfel că digestia acestor lipide începe în tractul intestinal, dar o parte pot fi absorbite fără a fi scindate. Hidroliza lor este realizată de către fosfolipaze pancreatice specifice. Aceste enzime desfac glicerofosfolipidele în componente. Prezența lor în sucul pancreatic este însă în concentrații foarte mici. Aceste enzime nu acționează asupra sfingolipidelor.

— *Digestia steridelor.* Aceste lipide sînt hidrolizate în acizi grași și steroli sub acțiunea catalitică a sterolesterhidrolazelor, cum este de exemplu colesterolesteraza, după reacția:

$$\text{Steridă} + H_2O \rightleftharpoons \text{Sterol} + \text{Acid gras}$$

Echilibrul reacției este controlat de *p*H-ul mediului și anume: la *p*H 7 se petrece hidroliză, la *p*H 6 are loc reacția de esterificare.

Absorbția. Întrucît lipidele sînt transformate prin digestie în compuși diferiți, absorbția lor va fi în funcție de natura compușilor rezultați. După absorbție acești compuși sînt preluați de limfă.

— *Absorbția gliceridelor.* Ca rezultat al digestiei sub acțiunea lipazelor, trigliceridele sînt hidrolizate în parte la glicerol și acizi grași, în parte la monogliceride și digliceride, iar o anumită proporție rămîne sub formă de trigliceride. Monogliceridele și digliceridele bine emulsionate pot fi absorbite ca atare prin peretele intestinului subțire. De asemenea, sînt absorbiți glicerolul și acizii grași. În epiteliul intestinal are loc însă o resinteză de gliceride din glicerolul provenit din lumen și acizii grași, îndeosebi a celor cu 12 sau mai mulți atomi de carbon în moleculă. Acizii grași cu catenă mai scurtă trec după absorbție în vena portă. În resinteza de trigliceride în celulele intestinale se pot parcurge două căi: una din glicerol și acizi grași și alta cu formarea prealabilă de acizi fosfatidici. Cea din glicerol și acizi grași constituie calea principală. Resinteza trigliceridelor decurge specific, adică acizii grași saturați (palmitic și stearic) ocupă pozițiile α, iar acizii nesaturați (oleic, linoleic, linolenic etc.) esterifică gruparea hidroxil din poziția β a glicerolului. Digliceridele și trigliceridele nehidrolizate pot fi și ele absorbite, dar numai după ce au fost extrem de fin emulsionate în particule cu diametrul mai mic de 0,5 microni. Acizii biliari nu pot produce singuri o dispersare atît de înaintată a di- și trigliceridelor, ci numai prin acțiunea simultană a acizilor biliari, a colesterolului și a monogliceridelor, constituind împreună micele coloidale care trec prin microvilozitățile intestinale în celule. La formarea acestor micele participă de asemenea steridele și sfingolipidele, datorită proprietăților lor hidrofile. Absorbția acizilor grași este facilitată de prezența colesterolului, care sub acțiunea enzimei colesterolesterazei se esterifică la gruparea hidroxil cu acești acizi grași. Steridele de acest fel trec prin mucoasa intestinală, iar după absorbție colesterolul este eliberat treptat. O altă parte de acizi grași sînt absorbiți sub formă de săpunuri

Scanned with OKEN Scanner

legați în micele. Acizii grași inferiori, relativ solubili în apă, sînt absorbiți ca atare sau ca anioni. În acest fel sînt absorbiți îndeosebi acizii grași rezultați din glucide sub acțiunea microorganismelor în prestomacele rumegătoarelor și în intestinul gros al erbivorelor. Acești acizi pot forma cu acizii biliari combinații moleculare hidrosolubile, numite acizi coleinici, în care raportul între acizii biliari și acizii grași este cuprins între limitele 4: 1 pînă la 9: 4.

Absorbția steridelor. Steridele produc prin hidroliză colesterol, care este absorbit și apoi esterificat în celulele intestinale, cu acizii oleic și linoleic. Sub forma acestor esteri, colesterolul trece în chil. În general, organismele animale absorb mai ușor colesterolul, iar unele animale (șobolan, iepure) pot absorbi chiar și stigmaterol și sitosterol. La găini, iepuri și șobolani sitosterolul împiedică absorbția colesterolului. Absorbția lor se realizează prin peretele intestinului subțire și apoi sînt preluați de limfă.

Absorbția fosfolipidelor. Datorită caracterului parțial hidrofil al fosfolipidelor, ele pot fi ușor absorbite. Atît componentele rezultate prin hidroliză, cît și fosfolipidele nehidrolizate sînt absorbite prin peretele intestinal și acolo are loc resinteza de fosfolipide. În peretele intestinului subțire odată cu resinteza au loc schimburi de acizi grași din fosfolipide și invers. Din acest motiv acizii fosfatidici sînt substanțe comune în biosinteza atît a gliceridelor, cît și a glicerofosfolipidelor. După absorbție, fosfolipidele sînt preluate de limfă.

Vehicularea. Vehicularea lipidelor în organism se face pe cale limfatică și sanguină. Peste 80% din lipidele absorbite trec în circulația generală pe cale limfatică, iar restul de 20% este transportat pe cale portală la ficat. În timpul absorbției lipidelor, concentrația lor în plasmă crește, îndeosebi a trigliceridelor. Transportul lipidelor, în comparație cu alți compuși, este un proces mai complex.

Formarea și funcția chilomicronilor. Diferitele lipide (trigliceride, fosfolipide și colesterol esterificat) se asociază în mucoasa intestinală cu proteine și formează micele lipoproteice, denumite chilomicroni. Acești chilomicroni sau picături de lipide au compoziție și stabilitate destul de diferită. Ei conțin 83% trigliceride (absorbite și resintetizate), 7% fosfolipide, 6% colesterol esterificat alături de puțin colesterol liber, acizi grași liberi și aproximativ 0,1—2% proteine. Lipidele absorbite sub formă de chilomicroni trec în limfă și apoi ajung în circulația sanguină în care viața lor este foarte scurtă, de cîteva ore, în funcție de vîrstă și de specie, întrucît se separă în componente. Trigliceridele sînt imediat hidrolizate de către glicerol-esterhidrolază, numită lipază serică, iar acizii grași sînt preluați de către albuminele serice și duși la ficat sau la țesuturile adipoase. Ficatul poate cataboliza acizii grași sau să îi utilizeze în biosinteza lipidelor circulante și a lipoproteinelor plasmatice. Concomitent cu desfacerea chilomicronilor are loc și un proces de transformare a lor în alte forme de lipoproteine circulante, cu un conținut mai ridicat în proteine. Partea proteică se află la suprafața micelei chilomicronilor, ceea ce le conferă proprietate hidrofilă. Persistența chilomicronilor este cu atît mai scurtă cu cît acizii grași din gliceridele incluse conțin acizi grași mai nesaturați. Mai stabile sînt β-lipoproteinele. Existența chilomicronilor se poate constata în plasmă direct prin tulburarea care se observă cu ochiul liber. Îmbogățirea chilomicronilor în proteine duce la turbiditate pronunțată, care se observă și prin creșterea densității parti-

Scanned with OKEN Scanner

culelor. Lipoproteinele din limfă și din ser se grupează pe baza diferenței de densitate în trei grupe, care reflectă și proporțiile în componente, după cum rezultă din tabelul 10.3.

Tabelul 10.3

Fracțiuni lipoproteice

Fracțiune lipoproteică	Densitate (g/ml)	Compoziție			
		Trigliceride	Fosfolipide	Colesterol esterificat	Proteine
Chilomicroni	0,955	83	7	8	2
„ cu densitate foarte mică	0,965—1,006	50	18	22	9
„ cu densitate mică	1,006—1,063	10	22	46	21
„ cu densitate mare	1,063—1,210	5	22	19	50

Lipoproteinele cu densitate mică se deosebesc de cele cu densitate mare și prin structura particulei coloide, primele avînd o structură micelară, iar ultimele pseudomoleculară. Cele cu structură micelară care cuprind chilomicronii și lipoproteinele cu densitate mică sînt alcătuite dintr-un nucleu hidrofob format din trigliceride și colesterol esterificat, înconjurat de un înveliș hidrofil constituit din colesterol liber, proteine și fosfolipide, îndeosebi lecitine. Lipoproteinele cu structură pseudomoleculară au dispusă componenta proteică în formă împăturită, iar în spațiile libere dintre catenele polipeptidice ale acesteia se află înglobate trigliceride, colesterol, glicerofosfolipide și sfingolipide.

În plasmă, o parte din chilomicroni sînt desfăcuți de către enzimele *lipoproteinlipază* și *lecitin-colesterol-acil-transferază* (LCAT). Lipoproteinlipaza hidrolizează trigliceridele din interiorul micelei, eliberînd acizii grași ai acestor gliceride, care sînt apoi încărcați pe seralbumine și puși în circulație. În acest fel plasma devine limpede, iar fenomenul poartă denumirea de clarifierea plasmei. Lecitin-colesterol-acil-transferaza facilitează transferul unui rest de acid gras din poziția β a lecitinei la colesterol:

$$\text{Lecitină} + \text{Colesterol} \xrightarrow{\text{LCAT}} \text{Lizolecitină} + \text{Colesterol esterificat}$$

Principala cale de destrămare a chilomicronilor este cea sub acțiunea lipoproteinlipazei. Această enzimă este eliberată din endoteliul vaselor sanguine de către heparină. În cazul că această enzimă este deficitară în țesuturi, din cauză congenitală, se produce boala numită *hiperlimenie esențială*, care constă în mărirea concentrației de lipide sanguine (în mod normal conținutul de lipide în sînge este 360 mg%). Lipoproteinlipaza nu are acțiune asupra fosfolipidelor și a esterilor colesterolului din chilomicroni, dar acestea odată lipsite de trigliceride sînt preluate și vehiculate de proteinele serice, alături de acizii grași liberi. Proteinele se pot combina cu heparina, fapt ce împiedică reacția de hidroliză a trigliceridelor chilomicroniene. Chilomicronii care nu sînt destrămați trec intacți în celulele parenchimului ficatului, iar o mică parte pătrund în capilarele mușchilor.

Trigliceridele de origine chilomicroniană ajung în ficat, dar pe diferite căi, în funcție de natura acidului gras esterificat. Astfel, trigliceridele este-

Scanned with OKEN Scanner

rificate cu acizi graşi cu peste 12 atomi de carbon trec prin ductul toracic, iar cele esterificate cu acizi graşi inferiori ajung în ficat prin vena portă. Lipidele pot ajunge în ficat şi pe alte căi, iar o parte pot fi sintetizate din glucide. Totodată, diferitele lipoproteine circulante se pot forma atît în ficat, cît şi extrahepatic, care au funcţia de a vehicula diferite lipide de la nivelul ficatului la ţesuturile de depozitare sau la alte ţesuturi. În mare parte originea lipoproteinelor este în ficat, iar a chilomicronilor în intestin.

Vehicularea sfingolipidelor este realizată de către o fracţiune lipoproteică cu densitate mare.

Depozitarea. Lipidele sanguine pot fi utilizate în două direcţii: una de depozitare în ţesutul adipos sub formă de grăsimi de rezervă şi lipide protoplasmatice şi alta de oxidare în ţesuturi.

Locul special de depozitare a grăsimilor de rezervă este ţesutul adipos, în care se adună celulele albe ce conţin o vacuolă umplută cu trigliceride. Alte celule sînt infiltrate cu picături de grăsimi şi colorate în brun din cauza numeroaselor mitocondrii pe care le conţin. Grăsimile de rezervă sînt alcătuite în cea mai mare parte din trigliceride, alături de puţine di- şi monogliceride şi colesterol. O mică parte din trigliceride sînt încorporate în mod direct în celulele adipoase prin pinocitoză. Cea mai mare parte a trigliceridelor din celulele adipoase sînt sintetizate din glucide în acest ţesut. Glucidele sînt surse de glicerofosfat rezultat prin hidrogenarea dihidroxiacetonfosfatului, care nu poate fi sintetizat de ţesutul adipos, întrucît el nu conţine enzima glicerokinază. Din acest motiv, la un regim prea bogat în glucide şi lipide este favorizată formarea lipidelor (lipogeneză) şi împiedică hidroliza lor (lipoliză). Acest mod de alimentare duce la îngrăşare. Îngrăşarea poate fi cauzată şi de dereglări hormonale. Astfel, insulina favorizează lipogeneza ca urmare a intensificării catabolismului glucidelor.

Prin cercetări relativ recente s-a putut confirma faptul că ţesutul adipos este un organ cu activitate metabolică proprie, putînd sintetiza trigliceride. Metabolismul lipidelor din ţesutul adipos este însă cu puţin mai lent decît al lipidelor din alte organe, doar în ţesutul nervos şi cerebral metabolismul lipidelor este mai încet decît cel din ţesutul adipos. Trigliceridele din ţesutul adipos diferă de cele din alimentaţia utilizată. Compoziţia glicеridică a ţesutului adipos de bovine arată în felul următor: oleaţi 43%, palmitaţi 19%, linoleaţi 14%, stearaţi 6% şi palmitoleaţi 5%.

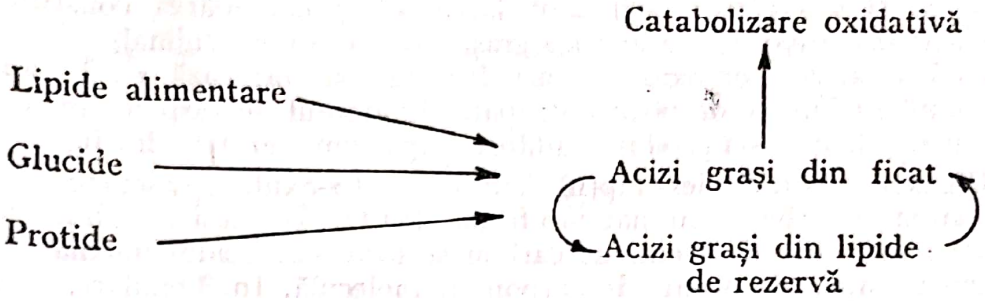
Acizii graşi liberi din sînge reprezintă 5% din totalul lipidelor serice, dar convertirea şi mobilitatea lor este mare. Concentraţia lor se poate dubla sau reduce la jumătate doar în cîteva minute. Ei sînt absorbiţi de ţesutul muscular în proporţie de 2/3, iar 1/3 ajung în ficat, de unde sînt oxidaţi sau utilizaţi în biosinteze.

Lipidele protoplasmatice au o structură constantă şi specifică fiecărui organ, indiferent de alimentaţie. Ele sînt sărace în gliceride şi conţin în special fosfolipide, steride şi cerebrozide. Ficatul este bogat îndeosebi în gliceride şi fosfolipide.

Rolul ficatului în metabolismul lipidelor. În metabolismul lipidelor ficatul ocupă un rol central întrucît de el depind toate etapele de catabolizare şi de anabolizare. Ficatul conţine lipide, dar el are capacitatea de a selecţiona preferenţial lipide cu conţinut mare în acizi graşi nesaturaţi. Totodată, ficatul este capabil de a transforma acizii graşi saturaţi în nesaturaţi. Dehidrogenarea este catalizată de acil-CoA-dehidrogenază sau acidgrasdehidrogenază, care este un complex multienzimatic. Sub acţiunea acestei enzime, acidul stearic este transformat în acid oleic, iar acidul palmitic în acid palmitoleic, care sînt monoenici; nu se pot însă introduce două sau trei duble

Scanned with OKEN Scanner

legături. Reacţia are loc şi invers, adică în ficat se pot satura acizii monoenici. Ficatul este sediul multiplelor transformări ale lipidelor, după cum reiese şi din următoarea schemă:



Întrucît lipidele sînt introduse în organism odată cu alimentaţia, mai întîi vor fi expuse problemele privind catabolizarea, şi numai după aceea cele privind formarea lor în organismele animale. Ţinînd seama de faptul că lipidele sînt esteri, catabolismul şi anabolismul lor constau, în ultimă instanţă, în desfacerea şi refacerea legăturilor esterice între componente. Totodată, deoarece componentele comune ale lipidelor sînt acizii graşi, care sînt şi sursa energetică pentru organism, se va expune mai întîi metabolismul acestora. Se desprinde deci faptul că la catabolizarea lipidelor etapele principale sînt *hidroliza* la acizi graşi şi componenta alcoolică şi *degradarea oxidativă a acizilor graşi* rezultaţi.

10.5.2. METABOLISMUL ACIZILOR GRAŞI. CATABOLISMUL ACIZILOR GRAŞI

Acizii graşi propriu-zişi care participă la structura lipidelor se caracterizează prin catene neramificate, saturate sau nesaturate, alcătuite dintr-un număr pereche de atomi de carbon, cum sînt de exemplu acidul palmitic (C_{16}) şi stearic (C_{18}) cu catenă saturată şi acidul oleic C_{18}) cu catenă nesaturată, cu o singură dublă legătură. Pe lîngă aceşti acizi graşi superiori la structura lipidelor din organismele animale participă în cantităţi mici şi acizi graşi inferiori. Catena acizilor graşi inferiori este liniară sau ramificată, cu număr par sau impar de atomi de carbon. Mai importanţi sînt acizii: acetic, propionic, butiric, valerianic etc. Aceşti acizi carboxilici provin mai ales din catabolismul glucidelor şi al protidelor.

Acizii graşi din organismele animale sînt degradaţi oxidativ pînă la CO_2 şi H_2O, punînd totodată în libertate o mare cantitate de energie. Dealtfel, valoarea energetică ridicată a gliceridelor (9,3 kcal/g) se datorează în cea mai mare parte catabolizării acizilor graşi din molecula lor. Calea principală de degradare a acizilor graşi este β-oxidarea. Prin acest proces catena acizilor graşi este degradată treptat, cu punerea în libertate de acid acetic, respectiv acetil-CoA, care este catabolizat în continuare pe calea acizilor tricarboxilici (calea ATC). Animalele au capacitatea de a sintetiza acizi graşi. Precursorul acestor biosinteze este acetil-CoA, care provine în mare măsură din glucide. Cantitatea de acetil-CoA, în general depăşeşte necesarul energetic, iar surplusul de acetil-CoA nu mai este oxidat la CO_2 şi H_2O prin ciclul ATC şi pe calea oxidării terminale, ci este utilizat în biosinteza de acizi graşi superiori, care se depozitează în celulele adipoase sub formă de gliceride. Sediul anabolismului acizilor graşi este ficatul şi în mică măsură alte organe.

Scanned with OKEN Scanner

Catabolismul acizilor grași. Catabolizarea acizilor grași are loc în mitocondrii și decurge pe calea β-*oxidării*. În procesul de catabolizare a acizilor grași se cunosc și alte căi, care se petrec la nivelul ribozomilor, cum sînt *α-oxidarea* și *ω-oxidarea*. Atît α-oxidarea, cît și ω-oxidarea constituie căi secundare de catabolizare a acizilor grași în organismele animale. Ca produși intermediari ai acestor oxidări a acizilor grași se formează α-, β- sau ω-hidroxi-acizi, în funcție de poziția ocupată de atomul de carbon din molecula acidului gras la care s-a produs oxidarea, după cum rezultă din figura 10.15.

Din schema 10.15 reiese faptul că în procesul α-oxidării se scurtează catena cu un atom de carbon, eliminat sub formă de CO_2. În acest fel, dintr-un acid gras cu număr par de atomi de carbon se formează acidul imediat inferior cu număr impar de atomi de carbon în moleculă. În β-oxidare, scurtarea catenei se face prin eliminare de doi atomi de carbon, sub formă de acid acetic, respectiv acetil-CoA. Prin acest proces de oxidare, de exemplu, din acidul palmitic (C_{16}) rezultă acidul miristic (C_{14}), iar la continuarea β-oxidării rezultă în final opt molecule de acetil-CoA. La degradarea acizilor grași prin ω-oxidare rezultă acizi dicarboxilici, cu un număr de atomi de carbon corespunzător cu acidul gras de la care s-a plecat. ω-Oxidarea se petrece la acizii grași cu catenă scurtă, îndeosebi la cei cu mai puțin de 10 atomi de carbon în moleculă și este specifică mai mult plantelor decît animalelor. Catabolismul acizilor grași se realizează în scopul obținerii de energie sau a resintetizării acizilor grași participanți în structura diferitelor lipide.

Catabolismul acizilor grași prin β-*oxidare*. Pentru organismul animal procesul de oxidare a acizilor grași constituie o importantă sursă de energie pentru celulele vii. Principala cale de oxidare este cea a β-oxidării. Primele dovezi experimentale au fost aduse de către K n o o p în 1905, iar mecanis-

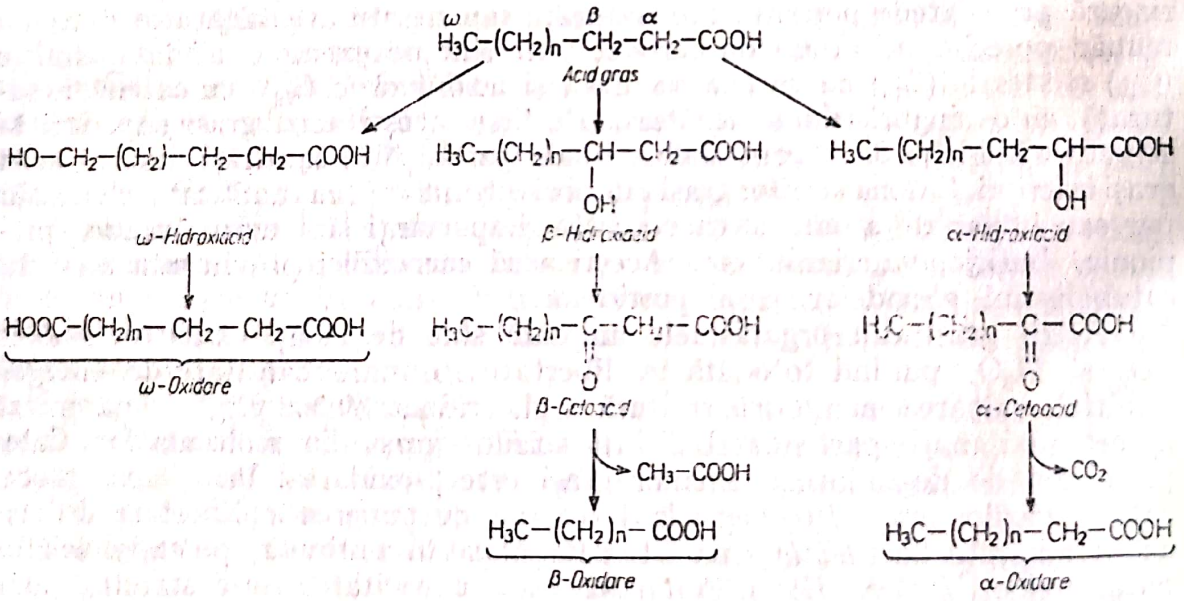


Fig. 10.15. Căile de catabolizare ale acizilor grași.

mul degradării a fost elucidat de către L y n e n în 1952. K n o o p a administrat cîinilor de experiență acizi grași cu un rest fenil legat de catena acidului utilizat și a examinat produșii excretați pe cale renală. S-a constatat că sînt degradate numai catenele acizilor, iar restul fenil rămîne nemodificat. În acest fel, fenilderivații acizilor grași cu catena laterală constituită

Scanned with OKEN Scanner

Catabolismul acizilor grași. Catabolizarea acizilor grași are loc în mitocondrii și decurge pe calea β-*oxidării*. În procesul de catabolizare a acizilor grași se cunosc și alte căi, care se petrec la nivelul ribozomilor, cum sînt *α-oxidarea* și *ω-oxidarea*. Atît α-oxidarea, cît și ω-oxidarea constituie căi secundare de catabolizare a acizilor grași în organismele animale. Ca produși intermediari ai acestor oxidări a acizilor grași se formează α-, β- sau ω-hidroxi-acizi, în funcție de poziția ocupată de atomul de carbon din molecula acidului gras la care s-a produs oxidarea, după cum rezultă din figura 10.15.

Din schema 10.15 reiese faptul că în procesul α-oxidării se scurtează catena cu un atom de carbon, eliminat sub formă de CO_2. În acest fel, dintr-un acid gras cu număr par de atomi de carbon se formează acidul imediat inferior cu număr impar de atomi de carbon în moleculă. În β-oxidare, scurtarea catenei se face prin eliminare de doi atomi de carbon, sub formă de acid acetic, respectiv acetil-CoA. Prin acest proces de oxidare, de exemplu, din acidul palmitic (C_{16}) rezultă acidul miristic (C_{14}), iar la continuarea β-oxidării rezultă în final opt molecule de acetil-CoA. La degradarea acizilor grași prin ω-oxidare rezultă acizi dicarboxilici, cu un număr de atomi de carbon corespunzător cu acidul gras de la care s-a plecat. ω-Oxidarea se petrece la acizii grași cu catenă scurtă, îndeosebi la cei cu mai puțin de 10 atomi de carbon în moleculă și este specifică mai mult plantelor decît animalelor. Catabolismul acizilor grași se realizează în scopul obținerii de energie sau a resintetizării acizilor grași participanți în structura diferitelor lipide.

Catabolismul acizilor grași prin β-*oxidare*. Pentru organismul animal procesul de oxidare a acizilor grași constituie o importantă sursă de energie pentru celulele vii. Principala cale de oxidare este cea a β-oxidării. Primele dovezi experimentale au fost aduse de către K n o o p în 1905, iar mecanis-

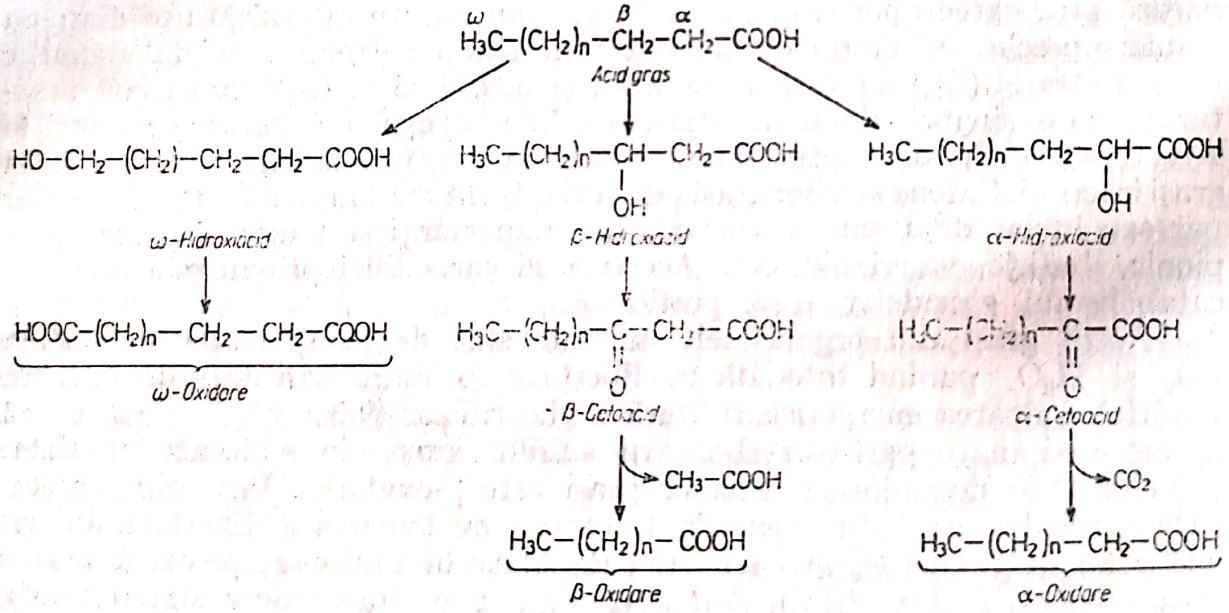
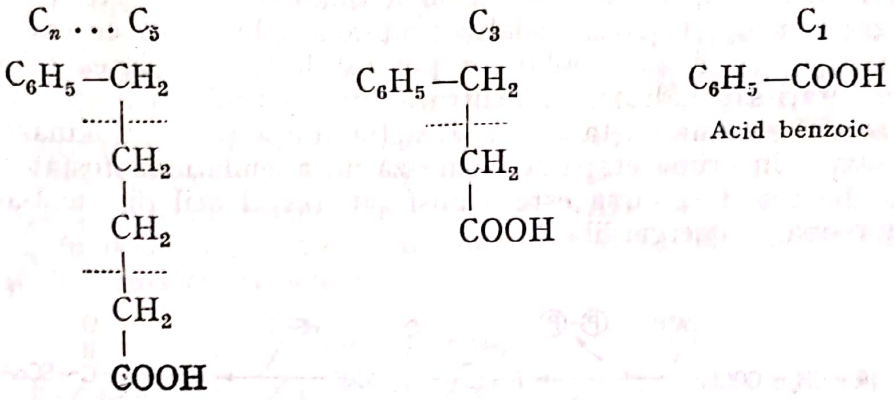


Fig. 10.15. Căile de catabolizare ale acizilor grași.

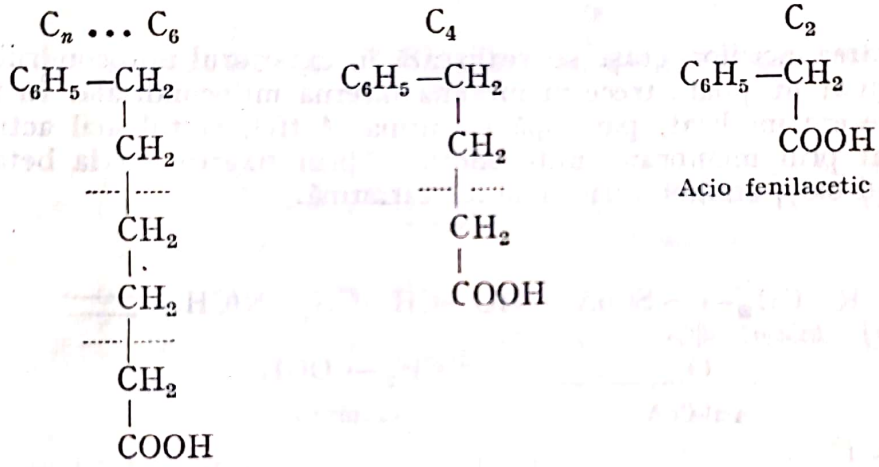
mul degradării a fost elucidat de către L y n e n în 1952. K n o o p a administrat cîinilor de experiență acizi grași cu un rest fenil legat de catena acidului utilizat și a examinat produșii excretați pe cale renală. S-a constatat că sînt degradate numai catenele acizilor, iar restul fenil rămîne nemodificat. În acest fel, fenilderivații acizilor grași cu catena laterală constituită

Scanned with OKEN Scanner

din număr impar de atomi de carbon au fost degradați la acid benzoic, iar cei cu catena laterală alcătuită dintr-un număr par de atomi de carbon transformați în acid fenilacetic.



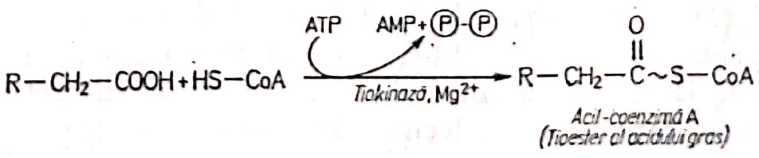
Fenilderivați cu număr impar de atomi de C în catenă



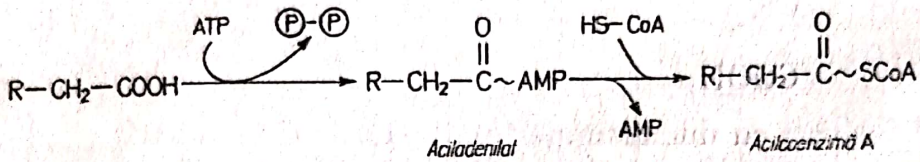
Fenilderivați cu număr par de atomi de C în moleculă

Din aceste transformări rezultă faptul că prin oxidări succesive de pe catena acizilor grași se desprind perechi de atomi de carbon și rămîne oxidat la funcție carboxil atomul de carbon din poziția β față de gruparea carboxil inițială. Mai mult, acizii inferiori constituie etape intermediare în catalibozarea acizilor grași superiori. Din acizi cu catena formată dintr-un număr impar de atomi de carbon rezultă numai produși de degradare cu număr impar, iar la catabolizarea celor cu catena dintr-un număr par se formează produși cu număr par de atomi de carbon. Procesul chimic al β-oxidării este mult mai complex și decurge în mai multe etape, sub acțiunea unui sistem multienzimatic.

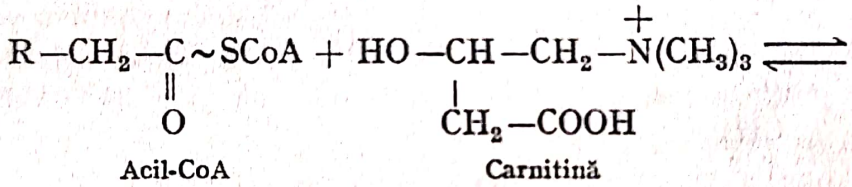
Activarea acizilor grași. Activarea acizilor grași se realizează în ficat sub acțiunea coenzimei A. În lipsa coenzimei A, acizii grași sînt destul de inerți și nu sînt oxidați, întrucît ei nu sînt capabili de oxidare numai după activare, prin transformarea lor în tioesteri macroergici cu CoA, în prezența ATP ca furnizor de energie, conform următoarei ecuații:

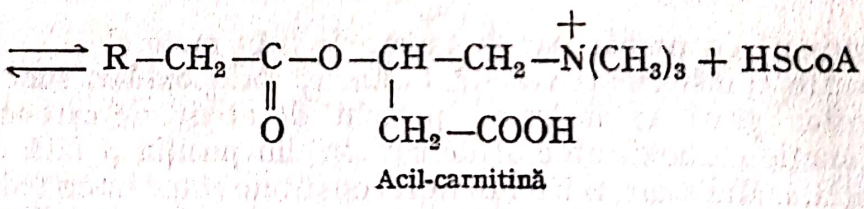


Transacilazele care catalizează cuplarea resturilor de acizi graşi la gruparea tiolică a coenzimei A se numesc tiokinaze. Ele au specificitate de substrat diferită. Astfel, în ficat există două tiokinaze, una este activă asupra acizilor graşi cu C_5—C_{22}, iar cealaltă asupra acizilor graşi cu catena constituită din C_4—C_{11}. Aceste tiokinaze pot cataliza şi cuplarea CoA de acizi graşi nesaturaţi sau hidroxilici. Pentru activarea acidului acetic şi propionic în ficat se află enzima acetakinază. Reacţia sub acţiunea tiokinazei decurge în două etape: în prima etapă se formează un adenilatmonofosfat al acidului gras, iar în cea de-a doua este transferat restul acil din acil-adenilat la CoA, împreună cu energia liberă:



Activarea acizilor graşi se realizează în exteriorul mitocondriilor. Acil-SCoA format nu poate trece membrana internă mitocondrială. În mecanismul de trecere implicat, participă carnitina. Astfel, restul acil activat este transportat prin membrana mitocondrială, prin fixarea lui la betaina acidului β-hidroxi-γ-aminobutiric, numită carnitină.





Această reacţie are loc pe faţa externă a membranei interne. Cedarea restului de acid de către CoA se face printr-o reacţie reversibilă acil-carnitina traversează cu uşurinţă membrana mitocondrială, iar pe faţa internă a membranei interne ea restituie restul acil coenzimei A printr-o inversare a reacţiei precedente. Raportul de catabolizare a acizilor graşi este dependent de raportul lor de trecere în mitocondrii.

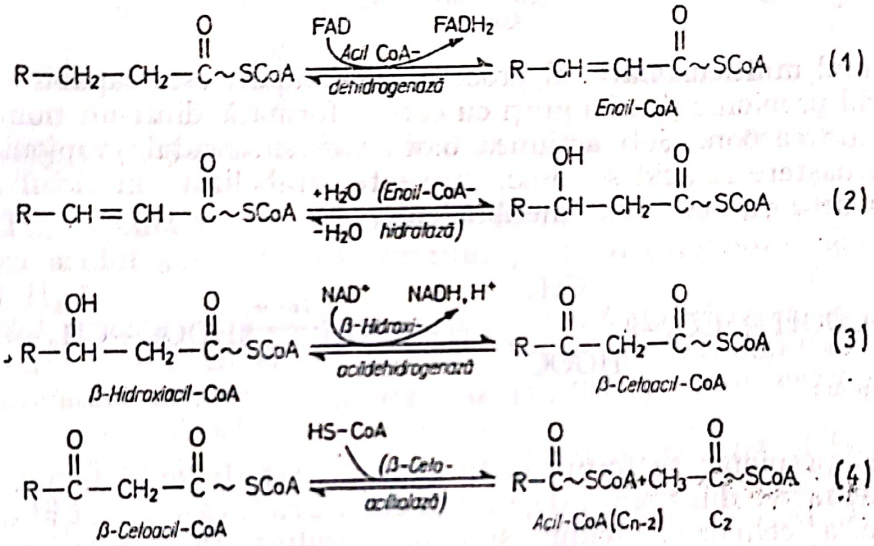
Carnitina este prezentă în toate ţesuturile animale şi în aproape toate organismele vii. Cea mai înaltă concentraţie se află în muşchi, în care cantitatea de carnitină este aproape 0,1% din materialul uscat. Prima dată, carnitina a fost izolată din extract de carne în 1905.

Procesul chimic al β-oxidării începe cu complexul macroergic acil-CoA, care posedă suficientă energie liberă pentru iniţierea oxidării. Odată începută oxidarea, ea continuă fără nici un alt aport energetic din exterior, fragmentîndu-se catena în molecule de acid acetic activat, respectiv în fragmente C_2.

Scanned with OKEN Scanner

Mecanismul β-oxidării. Fragmentarea catenei acidului gras nu are loc într-o singură etapă, ci printr-o succesiune de reacții, și anume: dehidrogenare, hidratare, dehidrogenare și scindare.

Prin dehidrogenarea acil-CoA de către enzima acil-CoA-dehidrogenază cu FAD specifică se introduce o dublă legătură în poziția α, β și se formează un enoil-CoA. Acest derivat, în urma adiției de apă în prezența enzimei enoil-CoA-hidratază, se transformă în β-hidroxiacil-CoA, care prin dehidrogenare la gruparea hidroxil dă naștere la β-ceto-derivatul corespunzător. β-Cetoacil-CoA rezultat reacționează cu o altă moleculă de coenzimă A, în prezența β-cetoaciltiolazei care conține NAD^+ și se produce scindarea acidului C_n în două fragmente și anume: C_{n-2} și C_2. Mecanismul β-oxidării este redat în următoarea schemă:



În acest fel se formează acetil-CoA, care poate participa în ciclul ATC, transformîndu-se în CO_2 și H_2O. Totodată, fragmentul acil-CoA (C_{n-2}) rezultat reîncepe un nou ciclu. Coenzima A eliberată la catabolizarea acetil-CoA poate lega o altă moleculă de acid gras, activînd și inițiind o nouă β-oxidare. Activarea acizilor grași are loc numai în prima fază, celelalte faze (1, 2, 3 și 4) au loc pe baza energiei eliberate în procesul de oxidare.

Acizii cu catenă mai scurtă, cum este de exemplu, CH_3—COOH nu există în stare liberă în organismul animal, decît ca o fază intermediară și deci legați de CoA.

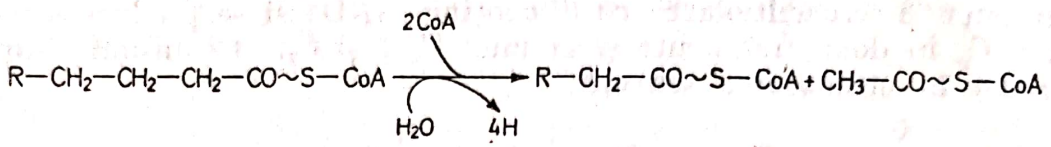
Enzimele β-oxidării. Enzimele β-oxidării au fost izolate în stare pură, și s-a constatat că ele sînt prezente atît în citoplasmă, cît și în mitocondrii. Catabolizarea mitocondrială a acizilor grași este strîns legată de respirația celulară, spre deosebire de cea citoplasmatică, a cărei legătură este mult mai slabă.

Catalizarea reacției (1) este realizată de acil-CoA-dehidrogenază, care este o metalflavoproteidă, cu fier sau cupru și cu coenzimă FAD. Aceste enzime au o specificitate relativă, iar trecerea formei reduse ($FADH_2$) la cea oxidată (FAD) nu se poate realiza cu oxigenul molecular, ci numai cu ajutorul unei enzime electrontransferflavoproteidice. Enzima enoil-CoA-hidrataza din reacția (2) este de fapt o crotonază, care are ca substrat un acil-derivat. Reacția (3) este catalizată de β-hidroxiacil-CoA-dehidrogenază și duce la formarea în cantități foarte mari a β-hidroxiacidului și numai puțin

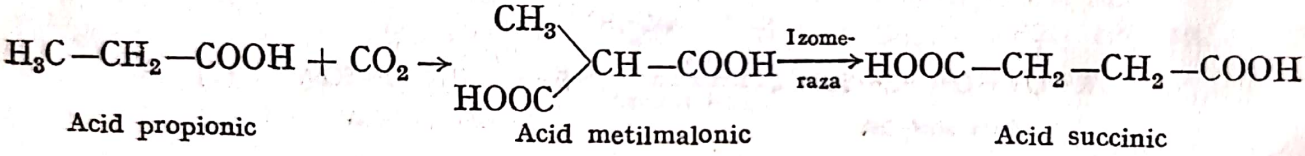
Scanned with OKEN Scanner

ceto-acil, dar consumarea treptată a cetoacidului face ca reacția (3) să decurgă de la stînga la dreapta, cu dehidrogenarea β-hidroxiacidului. Cetoacil-tiolazele sau acetil-CoA-acid-transferazele care catalizează reacția (4) se află în ficat, în rinichi, în creier etc. și sînt amestecuri de mai multe enzime, dar cu specificitate adaptată la diferiți acizi grași. Astfel, există o cetoacetil-tiolază, o β-cetopalmitiltiolază, o β-cetostearîltiolază etc.

Bilanțul β-oxidării pe parcursul celor patru reacții este un nou acil-CoA și acetil-CoA:



Sistemul multienzimatic al procesului β-oxidării este capabil să oxideze pînă la acid propionic și acizi grași cu catena formată dintr-un număr impar de atomi de carbon. Sub acțiunea biotinenzimei, acidul propionic fixează CO_2 și dă naștere la acid succinic, care este catabolizat în ciclul ATC. Intermediar se formează acid metilmalonic.



Acid propionic — Acid metilmalonic — Acid succinic

Acidul propionic se formează în cantități relativ mari în urma proceselor fermentative din tractul digestiv al erbivorelor, ca rezultat al degradării biochimice a celulozei. Acidul succinic rezultat în aceste procese este utilizat fie ca precursor în gluconeogeneză, fie ca substrat energetic în ciclul ATC.

10.5.2.1. CATABOLISMUL ACIZILOR GRAȘI SATURAȚI

Degradarea acizilor grași saturați în organismele animale decurge pe calea β-oxidării, prin fazele menționate, pînă la acetil-CoA. Ciclul reacțiilor (dehidrogenare, hidratare, dehidrogenare și scindare) pînă la scindare într-un nou acid gras, cu doi atomi de carbon mai puțin decît cel de plecare, și acetil-CoA a fost schematizat de *Lynen* pritr-un helix așa cum este redat în figura 10.16.

În urma catabolizării unei molecule de acid gras saturat cu catena normală și cu un număr par de atomi de carbon rezultă un număr de molecule de acetil-CoA, care este egal cu jumătate din numărul atomilor de carbon ai acidului gras catabolizat. Astfel la catabolizarea acidului palmitic rezultă în final opt molecule de acetil-CoA, după cum reiese din reacția globală:

$$CH_3-(CH_2)_{14}-CO\sim SCoA + 7\ HSCoA + 7\ FAD + 7\ NAD^+ + 7H_2O \rightarrow$$
$$\rightarrow 8\ CH_3-CO\sim SCoA + 7\ FADH_2 + 7\ (NADH + H^+)$$

Catabolizarea acizilor grași saturați are loc atît în țesutul hepatic, cît și în alte țesuturi, fiind localizată în mitocondrii, în care se află și enzimele

Scanned with OKEN Scanner

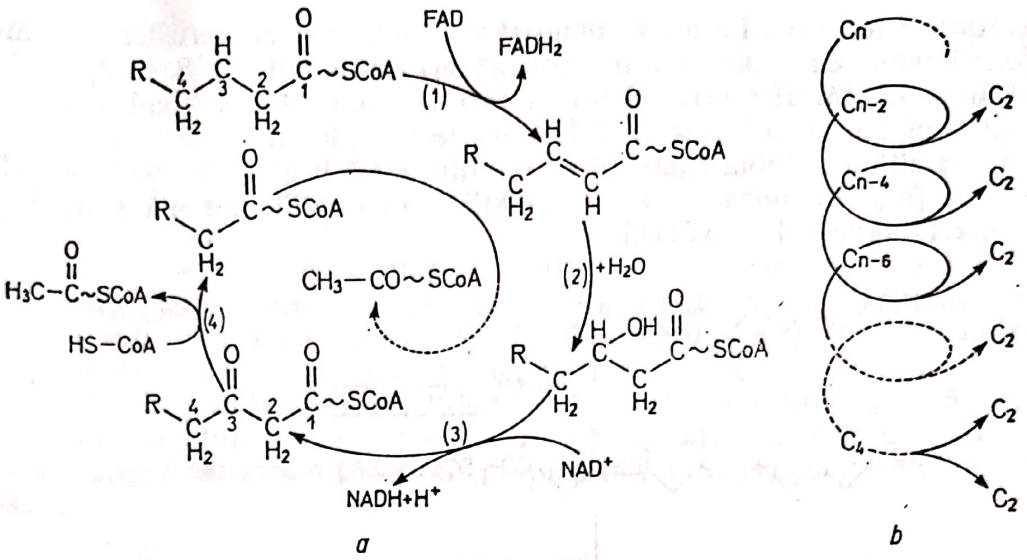


Fig. 10.16. Schema catabolizării acizilor graşi pe calea β-oxidării.

ciclului ATC, precum şi cele ale oxidării terminale. Acestea reliefează posibilitatea ca acidul acetic activat rezultat poate fi catabolizat mai departe la CO_2 şi H_2O.

Bilanţul energetic al β-oxidării acizilor graşi. Catabolizarea acizilor graşi prin β-oxidare duce la eliberarea de energie, care este înmagazinată în molecule de ATP. Totalizarea compuşilor macroergici, pe faze, exemplificat pe catabolizarea acidului palmitic se face astfel:

— activarea acidului palmitic, prin cuplarea lui cu CoA şi formarea de palmitil ~ SCoA consumă un mol de ATP;

— degradarea palmitil ~ SCoA prin β-oxidare duce în final la formarea a opt molecule de $CH_3—CO—CoA$. În acest caz, spirala lui Lynen are şapte spire şi pe fiecare spiră rezultă cîte o moleculă de $FADH_2$ şi alta de NADH, ceea ce corespunde la $2 + 3 = 5$ ATP. Întrucît helixul lui Lynen are şapte spire, energia cîştigată va fi $7 \times 5 = 35$ ATP;

— catabolizarea $CH_3—CO—CoA$ pînă la CO_2 şi H_2O produce 12 ATP, aşa cum s-a arătat la ciclul ATC; prin oxidarea celor opt moli de $CH_3—CO—CoA$ vor rezulta $8 \times 12 = 96$ molecule de ATP.

Totalizînd moleculele de ATP din procesele (1) şi (2) şi scăzînd ATP consumat în procesul de activare, rezultă un cîştig de 130 molecule de ATP la catabolizarea unei molecule de acid palmitic pe calea β-oxidării, pînă la CO_2 şi H_2O. Cantitatea de energie înmagazinată este de $130 \times 7 = 910$ kcal la fiecare moleculă gram de acid palmitic oxidat. Randamentul este superior celui realizat la degradarea oxidativă a glucozei, dar glucoza este mai uşor accesibilă degradării decît acizii graşi. Din acest motiv celula vie recurge la obţinerea energiei în mare măsură din glucoză.

10.5.2.2. CATABOLISMUL ACIZILOR GRAŞI NESATURAŢI

Catabolizarea acestor acizi începe, ca şi în cazul acizilor graşi saturaţi, prin activarea lor şi formarea de acil-CoA, ceea ce face posibilă degradarea lor pe calea β-oxidării, cu desprinderea succesivă a acetil-CoA pînă la punctul cînd prin scurtarea catenei gruparea —CO~CoA ajunge să se afle în vecină-

Scanned with OKEN Scanner

tatea dublei legături. La acest moment se produce o izomerizare a formei *cis* în formă *trans*, cu deplasarea dublei legături din β, γ în α, β și apoi hidratarea dublei legături C=C existente, care din nou urmează calea β-oxidării. Mecanismul de degradare a acidului oleic este redat în figura 10.17.

În cazul cînd dubla legătură C=C din acidul gras activat se află în poziția α, β și în formă *trans*, mai întîi are loc adiția de apă și apoi poate participa la procesul β-oxidării.

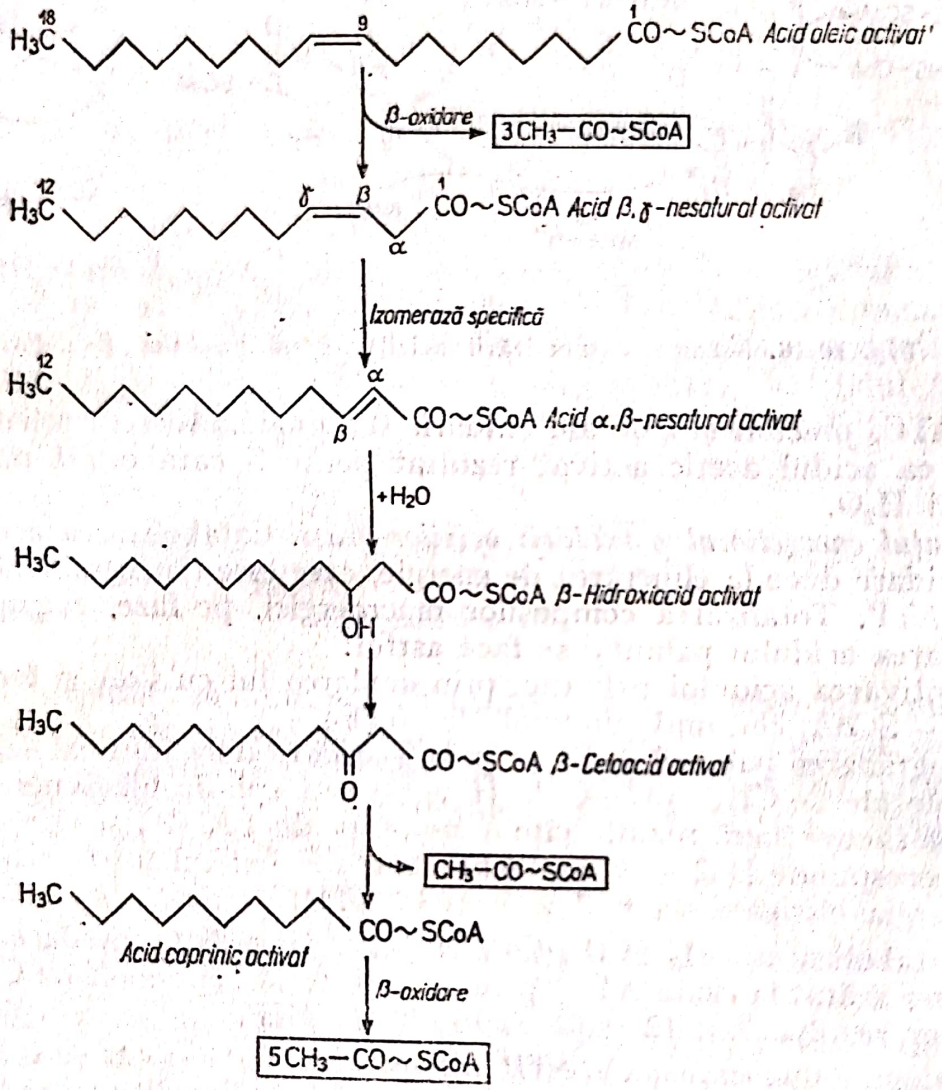


Fig. 10.17. Catabolizarea β-oxidativă a acidului oleic.

În privința bilanțului energetic al catabolizării acizilor grași nesaturați, el este apropiat de cel al acizilor grași saturați cu deosebirea că la cei nesaturați există dublă legătură C=C și deci nu se consumă un mol de FAD. Prin catabolizarea acidului oleic se formează în final opt moli de acetil-CoA.

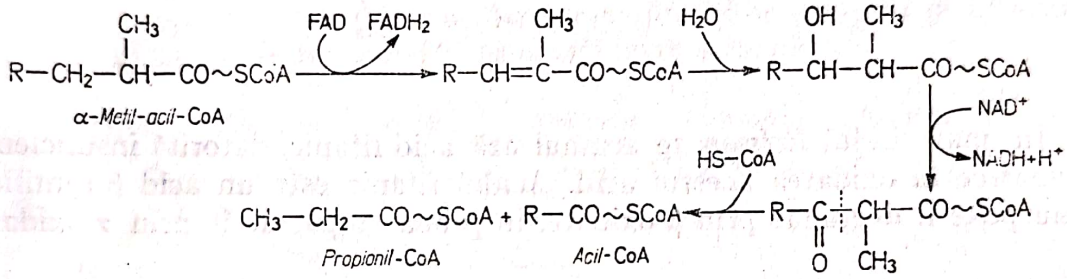
10.5.2.3. CATABOLISMUL ACIZILOR GRAȘI RAMIFICAȚI CU NUMĂR PAR ȘI IMPAR DE ATOMI DE CARBON

Ramificația acizilor grași constă, de obicei, în grupări metil și mai rar etil. În cazul cînd acidul gras posedă ramificația în poziție îndepărtată de gruparea carboxil, catabolizarea lui urmează calea β-oxidării pînă în momentul cînd fragmentarea duce la un rest cu ramificația în poziție α sau β față

Scanned with OKEN Scanner

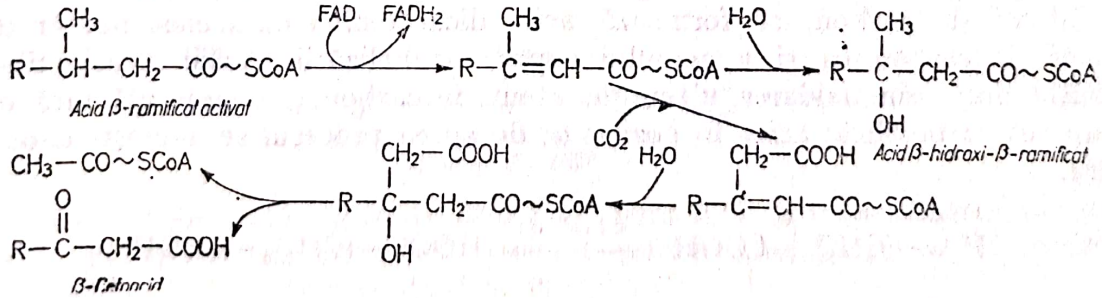
de gruparea carbonil a acil-CoA. Mai departe, fragmentul ramificat parcurge catabolizarea în mod diferențiat, în funcție de poziția ramificației α sau β. În general, acizii grași ramificați participă în mică măsură la constituția lipidelor, dar ei sînt constituienți ai lipidelor din unele microorganisme. Aici, ei se formează din aminoacizi. De aceea mai importanți din punct de vedere metabolic sînt acizii inferiori, îndeosebi acizii: propionic, acetil-acetic, izobutiric, izovalerianic etc.

— *Catabolizarea acizilor grași α-ramificați.* Catabolizarea acestor acizi se realizează prin procesul β-oxidării, deoarece ramificația din poziția α nu stînjenește nici una din fazele procesului β-oxidării. De la acizii α-ramificați cu grupă metil se formează mai întîi acidul α, β-nesaturat corespunzător, care este hidratat la β-hidroxiderivat de la care se obține prin etapele β-oxidării α-metil-β-ceto-acidul activat. Acest derivat activat, sub acțiunea CoA și a tiokinazei specifice, este scindat la propionil-CoA și la acil-CoA, în felul următor:

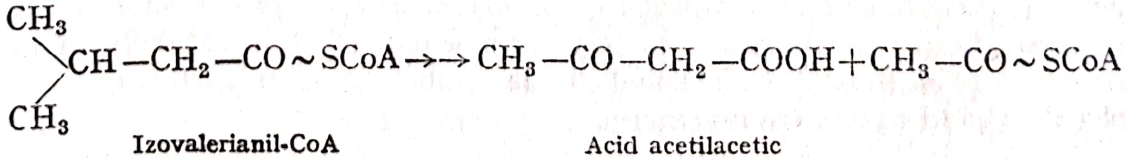


În catabolizarea acizilor grași α-ramificați se formează deci propionil-CoA în locul unei molecule de acetil-CoA. Procesul de catabolizare se continuă mai departe după helixul lui Lynen. Pe de altă parte, propionil-CoA poate fixa CO_2 în urma unui proces de carboxilare, în prezența biotinenzimei și să treacă în succinil-CoA.

— *Catabolizarea acizilor grași β-ramificați.* Pentru catabolizarea acizilor grași β-ramificați prin β-oxidare este necesară devierea de la calea normală, care așa cum s-a arătat duce la acid β-hidroxi-β-ramificat ce nu poate continua procesul de catabolizare, ci doar să producă corpi cetonici. Din acest motiv acizii grași β-ramificați trebuie să parcurgă o cale de degradare ocolită, după cum reiese din următoarele etape:



În cazul cînd acidul β-ramificat este acidul izovalerianic, care se formează din leucină, rezultă acidul β-cetobutiric, numit și acid acetilacetic:

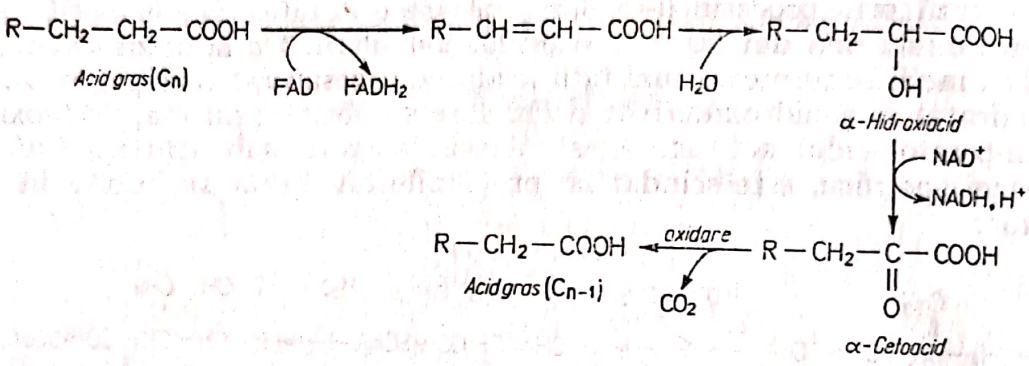


Izovalerianil-CoA Acid acetilacetic

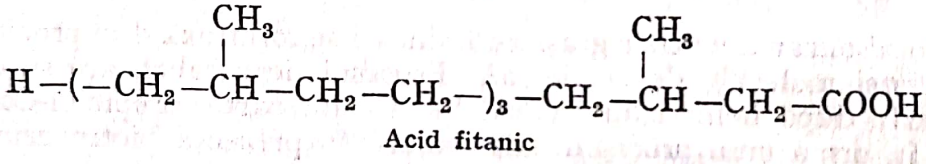
Acidul acetilacetic poate fi catabolizat în țesutul muscular și poate lua parte la cetogenază.

Catabolismul acizilor grași prin α-oxidare. Catabolizarea acizilor grași prin α-oxidare se desfășoară atît în plante, cît și în organismele animale, dar predomină în organismele vegetale.

Procesul α-oxidării constă în oxidarea atomului de carbon din poziția α față de gruparea carboxil și decurge după următoarele etape:



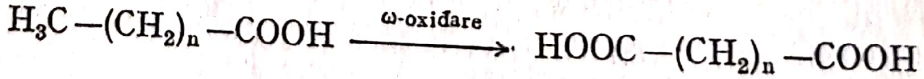
În maladia lui *Refsum* se acumulează acid fitanic, datorită insuficienței enzimatice în oxidarea acestui acid. Acidul fitanic este un acid β-ramificat ce nu poae fi degradat prin β-oxidare, în prima etapă, decît prin α-oxidare:



Acid fitanic

Acidul fitanic se formează în mod normal în organism din fitolul provenit din clorofile. Acest acid se acumulează îndeosebi în sistemul nervos, producînd perturbări la acest nivel.

Catabolismul acizilor grași prin ω-oxidare. S-a constatat că alimentînd animalele cu lipide constituite din acizi grași cu catena de 8 pînă la 18 atomi de carbon sau chiar cu acizii respectivi liberi, atît cu număr par, cît și impar de atomi de carbon, se formează acizi dicarboxilici cu același număr de atomi de carbon ca și a acidului supus catabolizării. Acizii dicarboxilici rezultă deci prin oxidarea ultimului atom de carbon din moleculă față de gruparea carboxilică, adică în poziție ω, de aceea procesul se numește ω-oxidare.



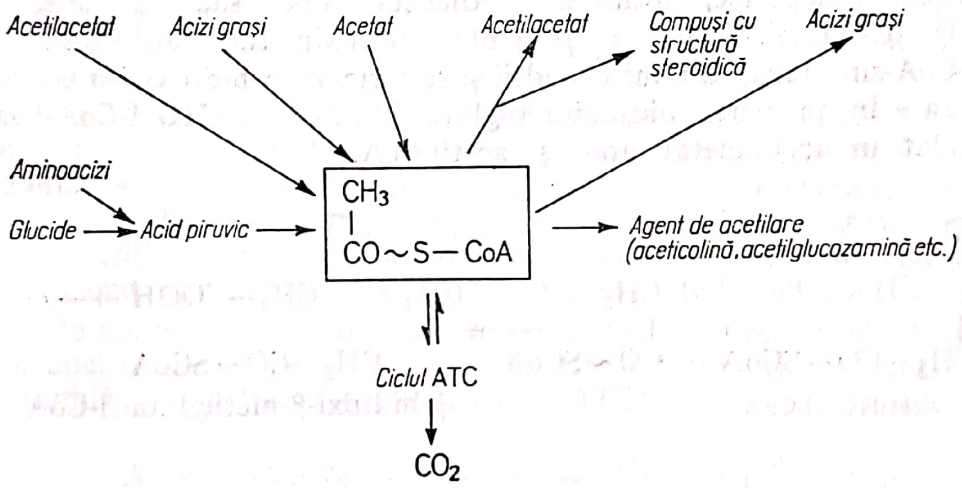
Pentru ω-oxidare cel mai bine se pretează acizii grași saturați cu catena formată din 10, 11 și 12 atomi de carbon. Randamentul oxidării este de cel mult 3%, ceea ce confirmă faptul că ω-oxidarea este un proces subordonat β-oxidării. Acizii dicarboxilici rezultați prin ω-oxidare sînt catabolizați în continuare prin β-oxidări, începînd de la ambele grupări carboxilice din moleculă, și deci cu o viteză mai mare.

Scanned with OKEN Scanner

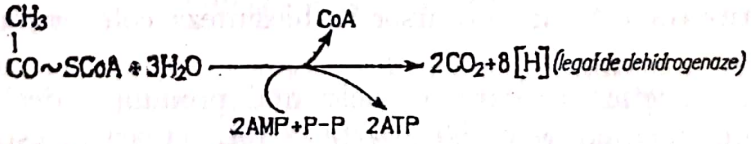
10.5.3. DESTINAȚIA ACETIL-COENZIMEI A ȘI FORMAREA CORPILOR CETONICI. CETOGENEZA ȘI CETOLIZA

Cantități mari de acid acetic rezultate din β-oxidarea acizilor grași, din oxidarea glucozei, precum și din alți compuși sub formă acetil-CoA, a constituit o problemă majoră mult disputată în cercetările biochimice. Prezența acidului acetic activat a fost confirmată prin procese de detoxifiere cu substanțe toxice ajunse în organism (compuși aromatici, hormoni în exces), cu care formează derivați acetilați netoxici și care se elimină apoi pe cale renală. În 1953 s-a confirmat faptul că acidul acetic activat este acetil-CoA și poate servi ca: donor de grupări acetat (în formarea de acetilglucozamină, acetilcolină etc.), se poate metaboliza oxidativ la CO_2 și H_2O, să dea naștere la corpi cetonici, prin procesul numit cetogeneză, să parcurgă o reacție de reversie în formarea de acizi grași, să participe în reacții de biosinteză a colesterolului etc.

Formarea acetil-CoA prin catabolizarea diferiților compuși și utilizarea lui în biosinteze poate fi rezumată în următoarea schemă:



— *Catabolizarea oxidativă* a acetil-CoA, în aerobioză, este realizată prin ciclul ATC, în care, în final rezultă CO_2, hidrogen activat și energie (ATP):



Dehidrogenazele reduse rezultate în ciclul ATC și în β-oxidarea acizilor grași, prin spirala lui Lynen, sînt reoxidate prin intermediul procesului oxidării terminale, dînd naștere la H_2O și energie.

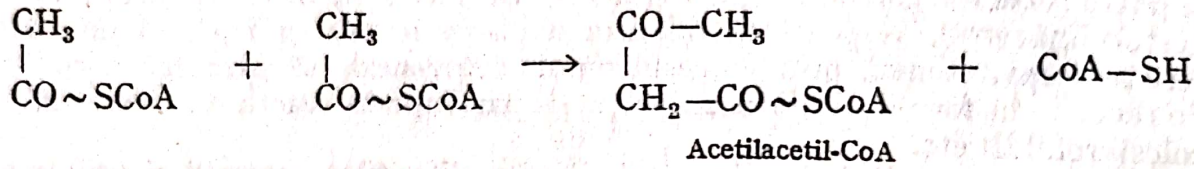
— *Cetogeneza*. O parte din acetil-CoA rezultat prin oxidarea acizilor grași urmează calea formării corpilor cetonici, reprezentați de acetilacetat, β-hidroxibutirat și acetonă. Cetogeneza este un proces normal (și nu patologic cum este excesul de glucide în diabet) și are loc în ficat. Așa cum țesuturile periferice eliberează glucoză pentru nevoile lor energetice, ficatul eliberează corpi cetonici, tot ca formă de stocaj de energie. Zilnic sînt formate și metabolizate de către organism aproximativ 200—300 grame corpi cetonici.

Scanned with OKEN Scanner

Mult timp s-a crezut că acidul acetilacetic rezultă din acizi graşi printr-un proces de oxidare incompletă. Confirmarea că el provine prin condensarea a două molecule de acetil-CoA a fost făcută de Weinhouse, care a demonstrat faptul că acidul caprilic marcat cu ^{14}C la gruparea carboxil dă naştere la acid acetilacetic dublu marcat:

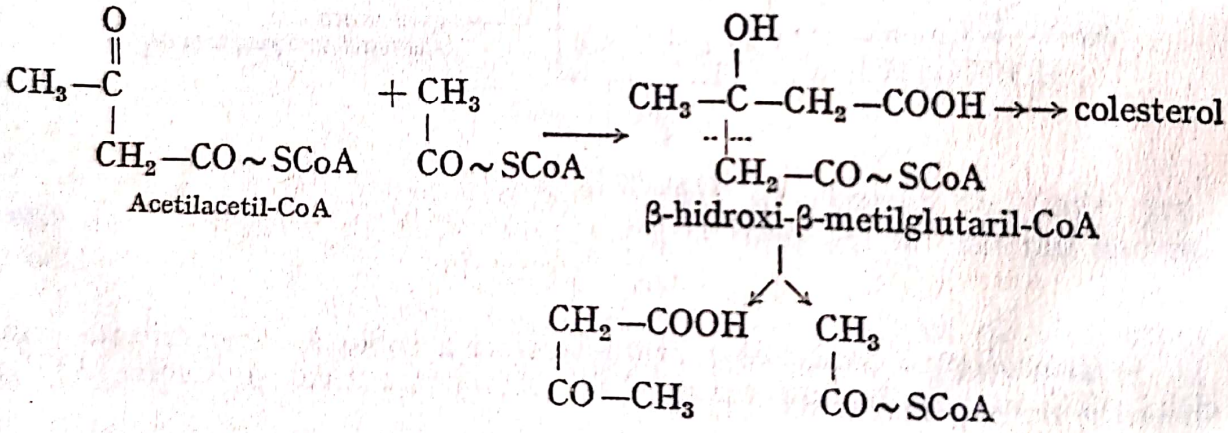
$$CH_3-(CH_2)_6-{}^*COOH \rightarrow CH_3-{}^*CO-CH_2-{}^*COOH + 2\ CO_2$$

Acetilacetatul se formează în ficat printr-un proces de aldolizare ireversibilă a acetil-CoA în prezenţa β-cetotiolazei:



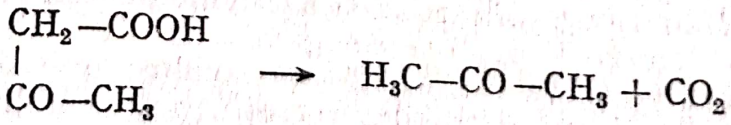
Acetilacetil-CoA

Acetilacetil-CoA astfel format suferă o deacilare ireversibilă, în prezenţa unei enzime hepatice, formînd acetilacetat liber sau reacţionează cu o moleculă de acetil-CoA, în prezenţa hidroximetilglutaril-CoA-sintetazei (HMG-CoA-sintetază) din mitocondrii şi să formeze β-hidroxi-β-metilglutaril-CoA, care în prezenţa hidroximetilglutaril-CoA-liază (HGM-CoA-liază) să fie scindat în acetilacetat liber şi acetil-CoA.



Acetilacetil-CoA este un precursor în biosinteza colesterolului şi a altor steroide.

Acidul acetilacetic are caracter acid mai pronunţat decît au în mod normal acizii organici, iar pe de altă parte ca toţi cetoacizii, este uşor decarboxilat la acetonă:

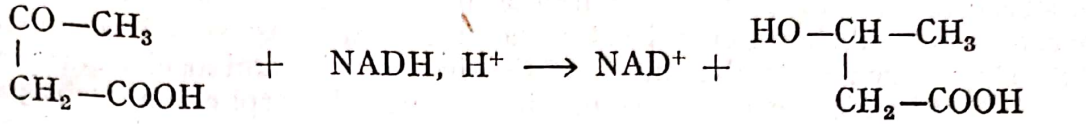


În ficat, o tiokinază poate transforma acidul acetilacetic în acetilacetil-CoA în prezenţă de ATP, CoA şi ioni de Mg^{2+}.

Ţesuturile animale conţin în mitocondrii o enzimă foarte activă, capabilă de a realiza reducerea grupării cetonice a acidului acetilacetic la gru-

Scanned with OKEN Scanner

parea HO în prezența NADH și a D(-)-β-hidroxibutiratdehidrogenazei și să se formeze acid D(-)-β-hidroxibutiric:



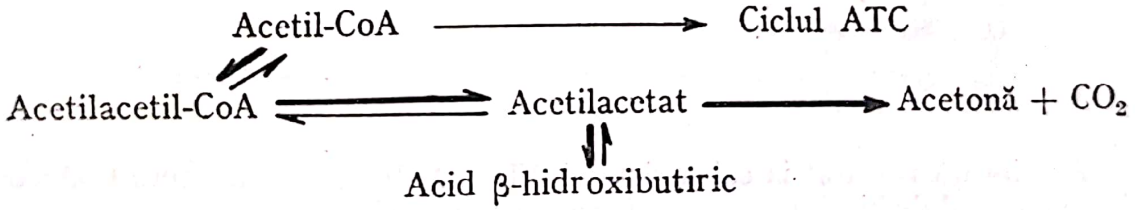
Acid *D*(-)-β-hidroxibutiric

Acidul β-hidroxibutiric format în această reacție este izomerul D-(-), contrar acidului β-hidroxibutiric izomerul L-(+), care se formează prin hidratarea dublei legături a dehidroacil-CoA în helixul Lynen.

Multe țesuturi sînt capabile să utilizeze acidul acetilacetic sau acidul β-hidroxibutiric și să-i introducă în ciclul ATC (după fixarea de CoA și transformarea în acetil-CoA). Mușchiul cardiac, de exemplu, poate utiliza acetilacetatul. La nivelul ficatului, unde degradarea acizilor grași este foarte importantă, introducerea acetil-CoA în ciclul ATC este mai puțin intens decît în alte țesuturi și o cantitate apreciabilă este deviată în formarea de acetilacetat. Cum acesta este greu oxidat de către parenchimul hepatic, el este redus în mare parte în β-hidroxibutirat (o mică parte este decarboxilat direct la acetonă). Acidul acetilacetic și β-hidroxibutiric trec totdeauna în circulația generală.

În mod normal sîngele de șobolan conține aproximativ 0,07 mM acid acetilacetic, 0,18 mM acid hidroxibutiric și cantități variabile de acetonă. Acidul acetilacetic și hidroxibutiric constituie compuși importanți pentru asigurarea energiei în mușchi și a altor țesuturi, cînd glucidele sînt deficiente. De asemenea, acidul acetilacetic poate fi considerat ca o formă de transport a unităților acetat, care trec în acetil-CoA și sînt oxidate în ciclul ATC.

Condițiile metabolice specifice ale ficatului explică deci că acest organ este sediul unei *cetogeneze fiziologice*, care în alte țesuturi este mascată prin oxidarea rapidă a corpilor cetonici în ciclul ATC:



⇒ reacții mai intense în ficat decît în alte țesuturi;
→ reacții mai intense în alte țesuturi decît în ficat;

Cetogeneza este în mod considerabil crescută în cursul unei deficiențe glucidice sau a diabetului și se vorbește atunci de o *cetogeneză patologică* sau de *cetoză*. Trebuie avut în vedere că degradarea acizilor grași nu se desfășoară totdeauna în mod normal și complet și că există concomitent un catabolism glucidic. La utilizarea unui regim alimentar bogat în glucide iau naștere cantități mari de CO_2 și coenzime reduse (NADH și $FADH_2$), care favorizează catabolizarea corpilor cetonici și stăvilesc acumularea lor în sînge (în mod normal în sînge se află 20—30 mg/100 ml). Lipsa de glucide duce la utilizarea incompletă a corpilor cetonici și deci la apariția cetozei. Rezultă deci faptul că cetogeneza patologică este consecința unui dezechilibru între formarea și degradarea acetilacetatului și constituie un proces de adaptare la carența glucidică. Cetogeneza și gluconeogeneza respectiv gliconeogeneza

Scanned with OKEN Scanner

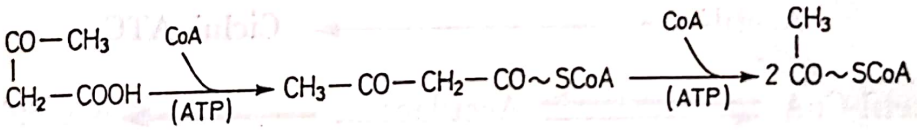
sînt strîns legate în conjuncturi anormale care au o cauză unică, deficiența în glucide (vezi cetoliza). Utilizarea excesivă a lipidelor și a proteinelor endogene în vederea compensării necesarului de glucide duce, de asemenea, la cetoză. Ca substanțe cu rol cetogenic sînt acizii grași și unii aminoacizi, cum sînt: leucina, fenilalanina, și tirozina, numiți aminoacizi cetogenici. Ca substanțe anticetogenice, care previn formarea de corpi cetonici sînt: glucidele, glicerolul și mulți aminoacizi: glicocolul, serina, alanina, cisteina, acizii aspartic și glutamic etc.

Cetoza constă în creșterea concentrației corpilor cetonici în organism și apare mai ales la vaci la începutul perioadei de lactație, din cauza dirijării unei concentrații mai mari de glucide spre formarea lactozei. Cetonemia este concentrația mărită a corpilor cetonici în sînge, iar cetonuria, concentrația lor mărită în urină. Cetonemia cauzează cetonurie. Rezultă deci că, cetogeneza sau procesele metabolice cetogene ocupă o poziție însemnată în catabolismul acizilor grași și al aminoacizilor.

Eliminarea din organism a corpilor cetonici se face sub formă de săruri alcaline, iar la eliminarea lor în cantități mari și în timp îndelungat duce la pierderea sărurilor de Na^+ și de K^+, ceea ce determină scăderea rezervei alcaline a sîngelui. Acetona se elimină prin urină și prin plămîni, din acest motiv animalele cu cetonemie răspîndesc un miros de acetonă în jurul lor.

Cetoliza. Catabolizarea acidului acetilacetic poartă denumirea de cetoliză. Acest proces este realizat în țesutul muscular și constă în transformarea acidului acetilacetic în acetil-CoA, care ia apoi calea ciclului ATC de catabolizare. Pentru convertire în acetil-CoA sînt necesare energie și HSCoA, iar procesul este realizat în mușchi, inclusiv în miocard, unde în urma catabolizării acetil-CoA format se cîștigă o parte din energia necesară activității țesuturilor. Acidul acetilacetic este în întregime catabolizat în produși finali, cu viteză mare (1 kg masă musculară poate cataboliza în timp de o oră 120 g acid acetilacetic).

Procesul de cetoliză poate fi redat prin ecuația următoare:



Acetil-CoA rezultat ia calea ciclului ATC. O altă parte de acetil-CoA constituie punctul de biosinteză a acizilor grași și a steridelor.

10.5.4. ANABOLISMUL ACIZILOR GRAȘI

În organismele animale anabolismul sau biosinteza acizilor grași, îndeosebi a celor saturați, se realizează cu mare intensitate de către multe țesuturi. Acest fapt denotă că celula vie este capabilă să resintetizeze acizii grași superiori pornind fie de la acizi grași inferiori proveniți din lipide, fie de la acidul acetic sau de la alți acizi inferiori existenți în circuitul metabolic. Acizii inferiori provin din catabolismul glucidelor în cea mai mare parte, dar și din catabolismul lipidelor și al protidelor. În acest fel se explică faptul că la animalele de fermă, a căror alimentație este săracă în lipide dar bogată în glucide, anabolismul acizilor grași se realizează intens, pe seama glucidelor, și în consecință ele se îngrașă.

Scanned with OKEN Scanner

Încă din 1901 Bleibtreu a propus o ecuație ipotetică de transformare a glucozei în acid palmitic:

$$4 \text{ Glucoză} + O_2 \rightarrow \text{Palmitat} + 8\ CO_2 + 8\ H_2O$$

Sediul biosintezei acizilor grași îl constituie ficatul, țesutul adipos, glanda mamară, intestinul și plămînul. Localizarea intracelulară a biosintezei este citoplasma celulară și mitocondriile.

Astăzi se știe că precursorul biogenetic îl constituie acetil-CoA, care provine atît din metabolismul glucozei, cît și al acizilor grași: glucoză→piruvat→acetil-CoA→palmitat. În momentul cînd necesarul energetic al organismului este acoperit, surplusul de acetil-CoA nu mai intră în ciclul ATC, ci este utilizat în biosinteza acizilor grași. Formarea acizilor grași din acetil-CoA parcurge un proces complex, în care participă pe lîngă enzimele din procesul β-oxidării și alte enzime cu rol esențial în biosinteză.

Biosinteza se realizează pe două căi. Una din ele se realizează prin carboxilarea acetil-CoA cu CO_2 activat și formarea malonil-CoA, la care se fixează o nouă moleculă de acetil-CoA. Întrucît se formează malonil-CoA procesul poartă denumirea de *calea malonil-CoA* sau *de novo* sau *calea citoplasmatică* (deoarece are loc în citoplasmă). A doua cale este cea care are loc în mitocondrii *(calea mitocondrială)* sau *elongației*, întrucît constă în fixarea la o catenă preexistentă de acid gras a unor resturi acetil, realizîndu-se în acest fel o alungire a catenei acidului cu doi atomi de carbon.

— *Biosinteza acizilor grași pe calea citoplasmatică* (*extramitocondrială*) sau *calea malonil-CoA*. Această cale are loc în aproape toate țesuturile animale și se desfășoară în prezența a patru factori și anume: ATP, HCO_3^-, Mn^{2+} și NADPH. Prima etapă o constituie carboxilarea acetil-CoA la malonil-CoA:

$$\text{Biotin-Enz} + CO_2 + \text{ATP} \rightarrow \text{Biotin-Enz-COOH} + \text{AMP} + PP_i$$

$$\text{Biotin-Enz-COOH} + CH_3 - CO \sim SCoA \rightarrow \text{Biotin-Enz} + \begin{matrix} CH_2 - CO \sim SCoA \\ | \\ COOH \end{matrix}$$

Malonil-CoA este catalizată de o biotin-enzimă numită acetil-CoA-carboxilază. Activitatea enzimei este stimulată de o serie de substanțe, de obicei componenți ai glicolizei și ai ciclului ATC: fructozo-1,6-difosfat, glicero-α-fosfat, izocitrat, dar activatorul strict specific este citratul. Ea este inhibată de avidină, care este un inhibitor al biotinei. Enzima este alcătuită din două componente, una care conține biotină și este activă în reacțiile de carboxilare, iar cealaltă are rol de transferază.

Întrucît malonil-CoA are metilen activ reacționează cu o moleculă de acetil-CoA sau cu acil-CoA și formează acetil-malonil-CoA, respectiv acil-malonil-CoA, dînd naștere la diferiți acizi grași, după cum rezultă din figura 10.18.

De la faza de β-cetoacid din figura 10.18, succesiunea de reacții este inversă celei de catabolizare pe calea β-oxidativă pînă se ajunge în faza de condensare cu o moleculă de malonil-CoA. În acest fel, procesul continuă pe o nouă treaptă sau spiră.

Necesarul mare de NADPH este furnizat de catabolismul glucozei pe calea ciclului ATC și a pentozofosfaților.

Viteza de formare a malonil-CoA influențează în mod hotărîtor bilanțul întregului proces anabolic, din acest motiv, atît acetil-CoA-carboxilaza, cît și activatorul ei, acidul citric, au rol de factori limitanți în succesiunea de reacții anabolice ai acizilor grași.

Scanned with OKEN Scanner

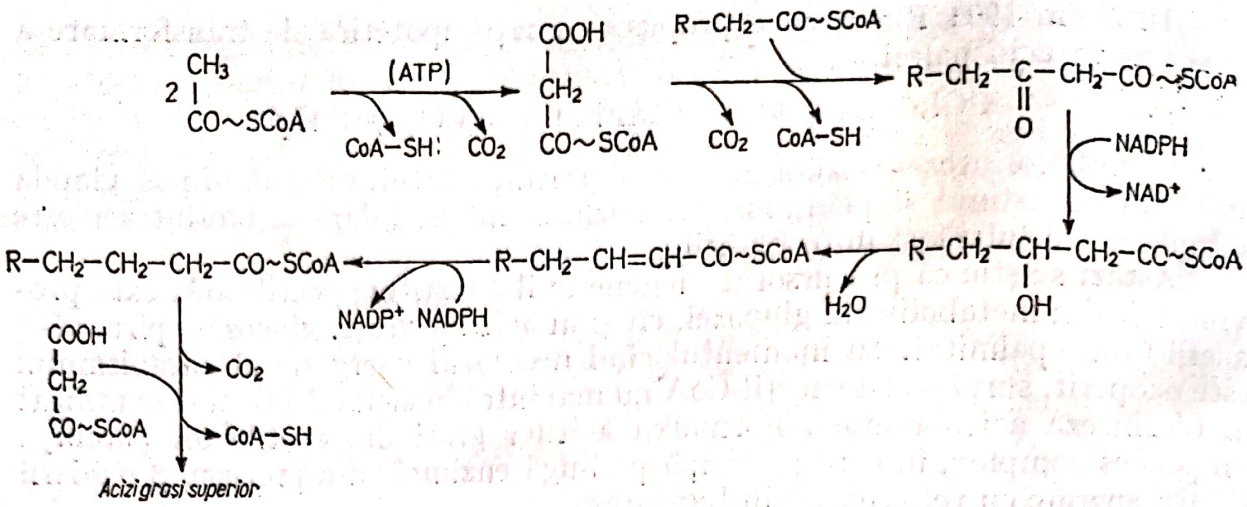


Fig. 10.18. Biosinteza acizilor graşi pe calea malonil-coenzimei *A*.

Mecanismul biosintezei. Prin cercetări cu malonil-CoA marcată cu ^{14}C şi cu acetil-CoA s-a putut dovedi că în formarea unui acid gras participă doar o moleculă de acetil-CoA, iar restul catenei provine din acid malonic. Acest fapt denotă că biosinteza acizilor graşi poate fi considerată ca un proces invers spiralei catabolice a lui *Lynen*, cu deosebirea că pe fiecare spiră intră o moleculă de malonil-CoA. După cuplarea malonil-CoA cu acetil-CoA se elimină o moleculă de CO_2 şi în consecinţă la fiecare spiră se prelungeşte catena cu doi atomi de carbon şi se elimină CO_2. Procesul este catalizat de un sistem multienzimatic, ale cărei componente individuale au fost izolate în stare pură şi care poartă denumirea de acid gras sintetază.

În ultimii ani s-au obţinut sisteme de acid gras sintetază de origine animală (ficat şi creier de şobolan, ficat de porumbel). Această enzimă reprezintă un sistem multienzimatic constituit din mai multe enzime şi are o structură spaţială rigidă. Enzimele componente ale acid gras sintetazei sînt grefate pe o proteină transportoare de acil, simbolizată PTA = acyl carrier protein. Această proteină posedă o grupare —SH ce aparţine grupării prostetice 4-fosfopanteteinei legată de o proteină printr-o legătură fosfodiesterică a unui rest de serină (fig. 10.19).

S-a demonstrat participarea la legarea resturilor acil a două grupări —SH ale sistemului multienzimatic desemnate ca grupare —SH centrală, care aparţine uneia din enzimele sistemului şi corespunde grupării —SH din cis-

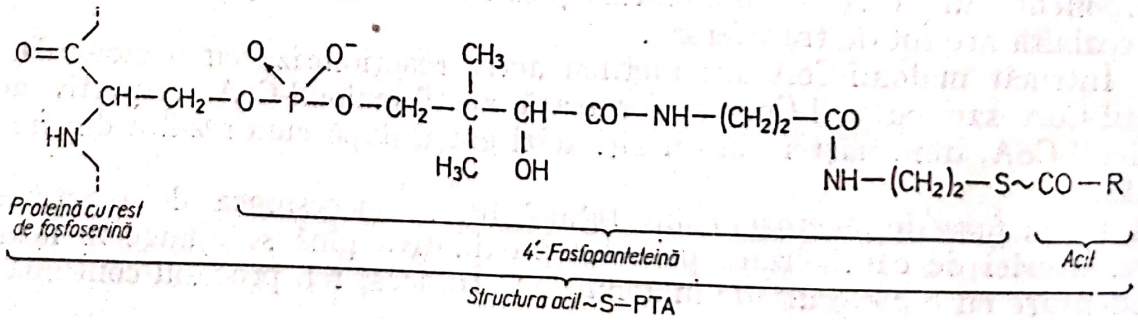


Fig. 10.19. Structura acil S—PTA.

teină situată în situsul activ (fig. 10.19). Gruparea —SH centrală leagă resturile: malonil, β-cetoacil şi β-hidroxiacil, iar gruparea —SH periferică leagă acetil şi acilii superiori. Cele două grupări —SH ţin legaţi covalent radicalii acili, sub formă de acil ~ S-enzimă. Formarea acidului gras cata-

Scanned with OKEN Scanner

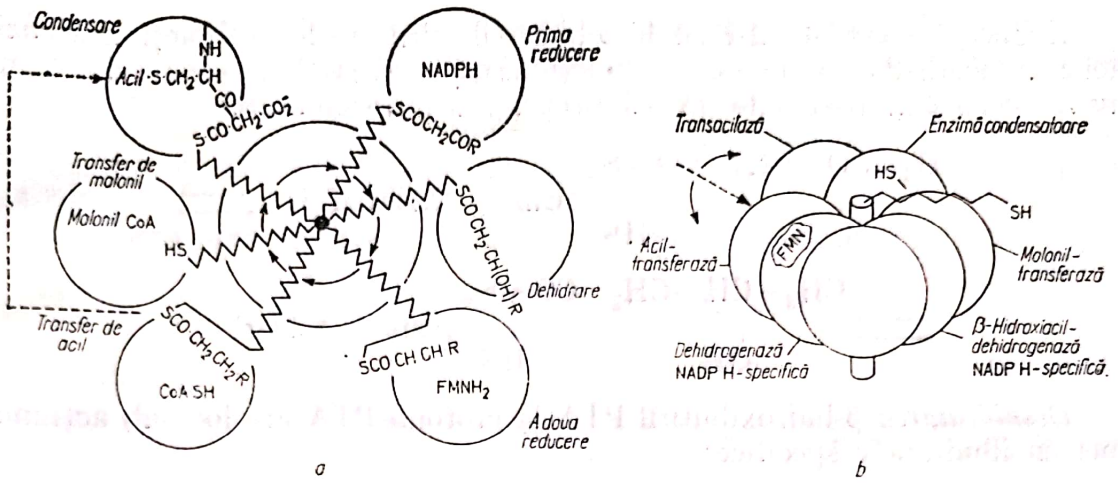


Fig. 10.20. Reacțiile din complexul multienzimatic acid gras sintetază (*a*); localizarea enzimatică în proces (*b*).

lizată de acid gras sintetază decurge prin mai multe etape, iar radicalii acetil și malonil pot fi transferați de enzimele specifice pe acid gras sintetază.

Transferul restului acetil din acetil-CoA pe gruparea —SH periferică decurge astfel:

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CO\sim S-CoA \end{array} + \begin{array}{l} \text{(centrală)} \\ HS \\ HS \end{array}\!\!\rangle Enz \rightleftharpoons \begin{array}{l} HS \\ CH_3-CO\sim S \end{array}\!\!\rangle Enz + CoA-SH$$

(periferică)

Restul acetil se regăsește la capătul CH_3-terminal al acidului gras, iar ceilalți atomi de carbon din molecula acidului gras provin din malonil-CoA.

Transferul restului malonil pe gruparea —SH centrală are loc astfel:

$$\begin{array}{l} HS \\ CH_3-CO\sim S \end{array}\!\!\rangle Enz + \begin{array}{l} CH_2-COOH \\ | \\ CO\sim S-CoA \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{l} HOOC-CH_2-CO\sim S \\ CH_3-CO\sim S \end{array}\!\!\rangle Enz$$

Prin reacția de *condensare*, respectiv de transferare a restului acetil pe malonil cu decarboxilarea simultană a restului malonil duce la formarea de acetilacetil-enzimă (β-cetoacil):

$$\begin{array}{l} HOOC-CH_2-CO\sim S \\ CH_3-CO\sim S \end{array}\!\!\rangle Enz \longrightarrow CH_3-CO-CH_2-CO\sim S-Enz + CO_2$$

HS

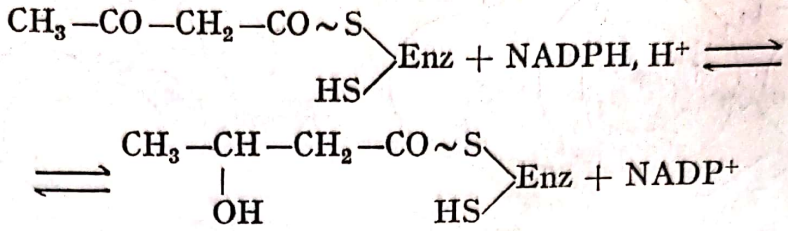
Acetilacetil-PTA

Decarboxilarea ce însoțește condensarea face ca reacția de cuplare să fie deplasată spre dreapta.

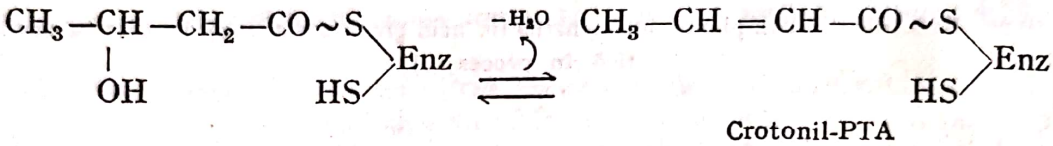
Toate celelalte reacții ce duc la formarea acidului gras, decurg pe grupa —SH centrală.

Scanned with OKEN Scanner

Reducerea acetilacetil-PTA la β-hidroxibutiril are loc sub acțiunea enzimei acetilacetil-PTA-reductaza ce funcționează cu NADPH, care are o acțiune inversă celei β-hidroxi-acil-CoA-dehidrogenazei mitocondriale:

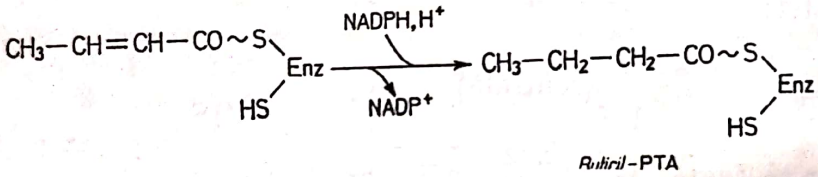


Deshidratarea β-hidroxibutiril-PTA la crotonil-PTA are loc sub acțiunea unei enoilhidrataze specifice:



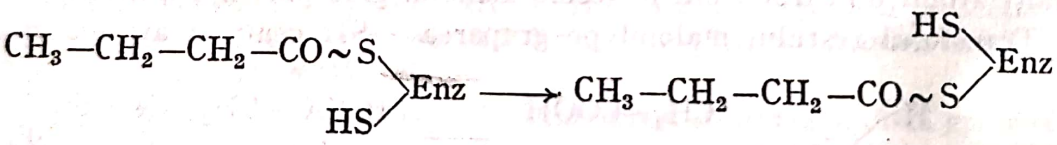
Crotonil-PTA

Reducerea crotonil-PTA la butiril-PTA necesită NADPH și enzima flavinică specifică dehidro-acil-PTA-reductază:

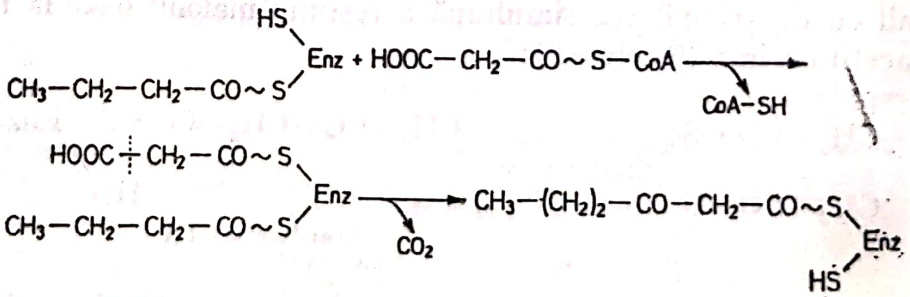


Butiril-PTA

Butiril-PTA format intră în reacțiile celui de-al doilea ciclu de condensare. Mai întîi are loc transferul radicalului butiril pe o altă grupare —SH și anume pe cea periferică, eliberînd-o pe cea centrală din PTA, care poate fixa un nou radical malonil.



Condensarea cu o nouă moleculă de malonil-SCoA se realizează prin transferarea radicalului butiril pe restul malonil cu decarboxilarea simultană a acestuia:

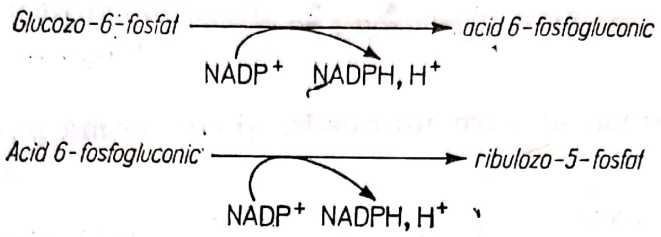


De la acest butirilacetil-PTA procesul parcurge aceleași etape la nivelul C=O din poziția β (hidrogenare, deshidratare și hidrogenare) ajungîndu-se în cele din urmă la hexanoil-PTA (caproil-PTA). Reacțiile continuă după acest model pînă la obținerea unei catene superioare, care este în general de 16 și

18 atomi de carbon. În momentul cînd s-a format lanțul, intervine o enzimă hidrolitică, care pune în libertate acidul gras, iar gruparea —SH centrală devine liberă fiind aptă să inițieze sinteza unei alte molecule de acid gras.

Biosinteza acizilor grași necesită cantități mari de NADPH pentru numeroasele procese de reducere pe care le implică. NADPH poate proveni din trei surse:

— Sursa principală este dată de metabolismul glucidelor;

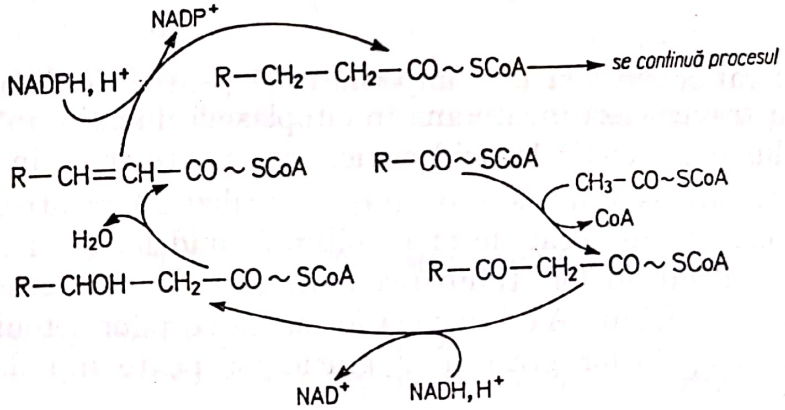


— Din reacția de dehidrogenare oxidativă a acidului malic la acid piruvic:

$$HOOC-CH_2-CHOH-COOH + NADP^+ \rightarrow CH_3-CO-COOH + CO_2 + NADPH,\ H^+$$

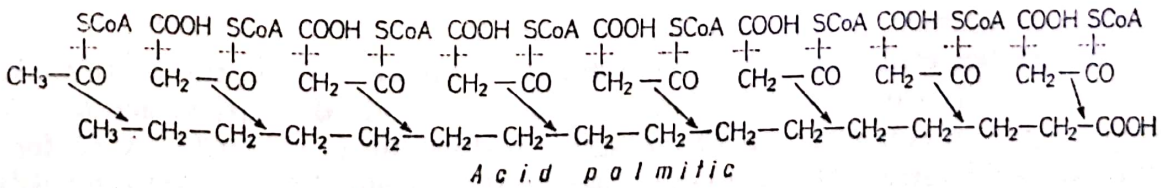
— Din convertirea triozofosfaților la acid fosfoenolpiruvic.

— *Biosinteza acizilor grași pe calea mitocondrială sau calea elongației.* Această cale constă în a fixa la o catenă preexistentă de acid gras a unor resturi de acetil, realizîndu-se în acest fel o alungire cu doi atomi de carbon a acidului inițial. Procesul urmează în principiu calea inversă β-oxidării.



Rezultatul procesului de alungire este un acid gras sub formă legată de CoA, spre deosebire de calea malonil-CoA în care se formează acizi grași superiori. Procesul elongației este important atît pentru obținerea de acizi grași superiori, cît și, mai ales, pentru formarea acizilor grași nesaturați mono- și polienici.

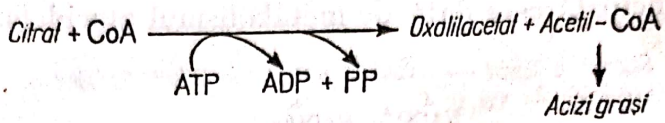
Bilanțul și reglarea biosintezei acizilor grași. Formarea unei molecule de acid palmitic necesită o moleculă de acetil-CoA și șapte de malonil-CoA (provenite din șapte molecule de acetil-CoA), precum și 14 molecule de NADPH



Acid palmitic

Scanned with OKEN Scanner

Sursa biosintezei acizilor grași o constituie glucidele: acidul piruvic este oxidat în mitocondrii la acetil-CoA, care se condensează cu acidul oxalilacetic și dă naștere la acidul citric. Acidul citric trece din mitocondrii în compartimentul extramitocondrial ($CH_3—CO—SCoA$ nu poate realiza această trecere din cauza dimensiunii moleculei), unde este scindat în acetil-CoA și oxalilacetat:



Schimbul permanent între mitocondrii și citoplasmă poate fi redat schematic astfel:

În mitocondrii: Acid oxalilacetic + Acetil-CoA $\xrightarrow[\text{sintetază}]{\text{citrat-}}$ Acid citric + CoA

În citoplasmă:

Acid citric + CoA $\xrightarrow[\text{Enz. de scindare}]{\text{ATP, } Mg^{2+}}$ Acid oxalilacetic + Acetil-CoA

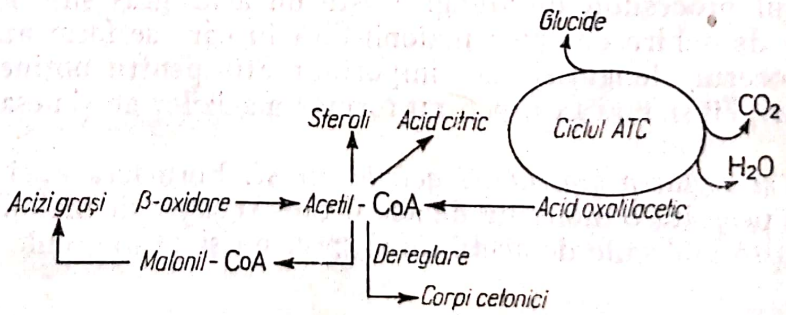
Acid oxalilacetic $\xrightarrow[\text{drogenază}]{NAD^+\text{-dehi-}}$ Acid malic

Acid malic $\xrightarrow{NADP^+}$ Acid piruvic + CO_2

În mitocondrii: Acid piruvic + CO_2 $\xrightarrow{ATP}$ Acid oxalilacetic

Membrana mitocondrială este impermeabilă pentru CoA, iar acetil-CoA din mitocondrii traversează membrana în citoplasmă numai după ce s-a condensat cu acidul oxalilacetic la acid citric, care poate trece în mitocondrii.

Reglarea metabolismului acizilor grași se realizează printr-un mecanism complex, care este strîns legat de metabolismul lipidelor și al protidelor, și îndeosebi de cel al glucidelor. Inhibarea biosintezei acizilor grași și funcționarea defectuoasă a ciclului ATC duce la formarea corpilor cetonici. Legătura între metabolismul acizilor grași și al glucidelor poate fi redat schematic astfel:



Etapa limitantă de viteză este formarea malonil-CoA din acetil-CoA. Efectul inhibiției este exercitat de acizii grași sau de derivați ai acetil-CoA asupra enzimei condensatoare a acidului oxalilacetic și a acetil-CoA cu formare de acid citric. De asemenea, activitatea enzimei condensatoare este

Scanned with OKEN Scanner

influențată de raportul ATP/AMP din celulă (la valori ridicate este inhibată activitatea). O serie de hormoni cum este insulina, controlează biogeneza acizilor grași.

Anabolismul acizilor grași nesaturați cu una sau mai multe duble legături C=C se realizează în unele microorganisme și în plante. Animalele au capacitatea de a sintetiza numai acizi grași nesaturați cu o dublă legătură de tipul acidului oleic, în prezența unor dehidrogenaze specifice. Pentru introducerea unei duble legături în acidul stearic (și niciodată la animale în acidul palmitic) este necesară prezența NADPH și O_2:

$$R-CH_2-CH_2(CH_2)_7-CO\sim S-CoA + O_2 + NADPH,\ H^+ \rightarrow$$
$$\rightarrow R-CH=CH-(CH_2)_7-CO\sim S-CoA + 2H_2O + NADP^+$$

Procesul are loc în citosol. Conversia oleil-CoA în linoil-CoA nu se poate realiza la animale. Ca o consecință a deficienței biosintezei acizilor grași polienici, cum sînt acizii: linoleic, linolenic (cu C_{18}) și acidul arachidonic (cu C_{20}), organismul animal trebuie să-și ia acești acizi din alimentație. Formarea acizilor grași polienici (a celor trienici din dienici și tetraenici din trienici) se realizează prin introducerea de duble legături în prezența unor dehidrogenaze specifice, dar în așa fel ca între dublele legături să fie cel puțin trei atomi de carbon și nu mai aproape de gruparea carboxil decît de șase atomi de carbon de aceeași serie. Acizii grași nesaturați cu mai multe duble legături se formează din omologi inferiori pe calea elongației. Astfel, animalele au capacitatea de a transforma acizii polienici cu C_{18} în acizi polienici cu C_{20}, ca de exemplu, la condensarea acidului linolenic cu acetil-CoA se formează acidul arahidonic. Totodată, în rumenul erbivorelor acizii grași nesaturați pot fi hidrogenați de către unele bacterii. Hidrogenarea se realizează în trepte, iar formele *cis* trec în forme *trans*.

10.5.5. METABOLISMUL GLICERIDELOR

Metabolismul gliceridelor se realizează în ficat și în țesutul adipos. Anabolismul și catabolismul lor este dependent de concentrația în glucoză a sîngelui. Anabolismul nu este o simplă inversare a hidrolizei, ci are loc pe alte căi, din componente activate.

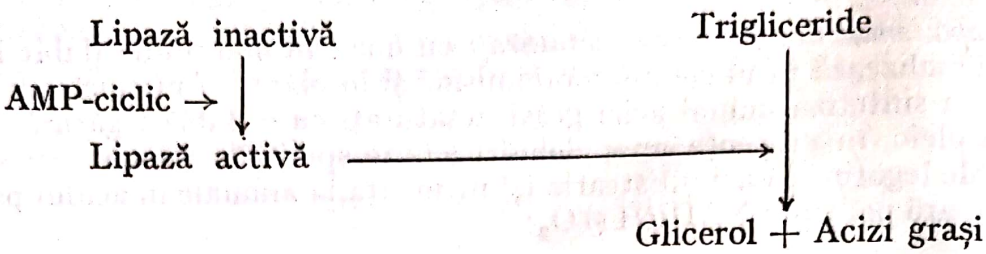
Catabolismul gliceridelor sau lipoliza. Hidroliza trigliceridelor este realizată de către lipaze. Digestia intestinală utilizează lipaza pancreatică care are o acțiune specifică asupra legăturilor esterice din poziția α ale glicerolului și care eliberează succesiv o digliceridă și o monogliceridă.

Trigliceridele circulante sînt captate de ficat sau de țesutul adipos, care dispun la nivelul membranelor celulare de enzima lipoproteinlipază. Această enzimă se mai află în inimă, rinichi și plămîni. Este activată de heparină. Acțiunea acestei enzime este completată de cea a unei monogliceridlipaze, fapt ce duce la eliberarea acizilor grași, care apoi trec în interiorul celulelor.

Hidroliza decurge în etape. Pentru hidroliza trigliceridelor în țesutul adipos este necesară o lipază adrenalinosensibilă, care eliberează acizi grași și glicerol. Această enzimă este dependentă de mediatori nervoși și hormonali,

Scanned with OKEN Scanner

putînd trece din formă inactivă în formă activă. Acest fapt este realizat de către AMP-ciclic.



Din acizii graşi nesaturaţi se formează apoi prostaglandine, care mediază activarea diferiţilor hormoni prin formarea mediatorului AMP-ciclic. În acest mod se reglează lipoliza în ţesutul adipos.

Întrucît metabolismul şi anabolismul acizilor graşi se realizează în ficat şi căile au fost arătate, în cele ce urmează se va trata catabolismul şi anabolismul glicerolului.

Catabolismul glicerolului. Procesul de catabolizare a glicerolului parcurge o serie de etape, după o prealabilă transformare în glicerofosfat, sub acţiunea unei fosfokinaze şi a unui consum de ATP. Prin reducerea glicerofosfatului de către NADPH, în prezenţa gliceroaldehid-dehidrogenazei, se formează aldehida fosfoglicerică, care este transformată prin procesul de glicoliză în acid piruvic, iar acesta, prin decarboxilare în condiţii aerobe în acetil-CoA (fig. 10.21).

Acetil-CoA rezultat este catabolizat oxidativ pe calea ciclului ATC şi a oxidării terminale sau poate fi utilizat în diferite biosinteze.

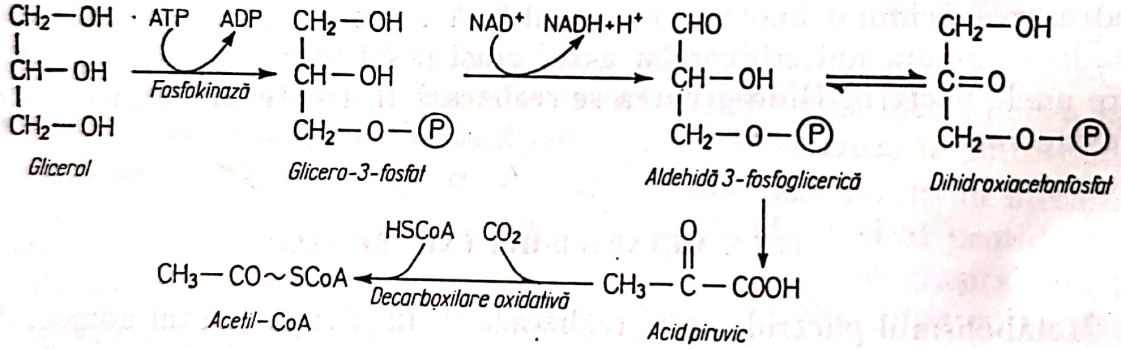
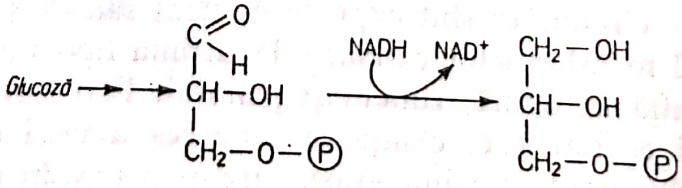


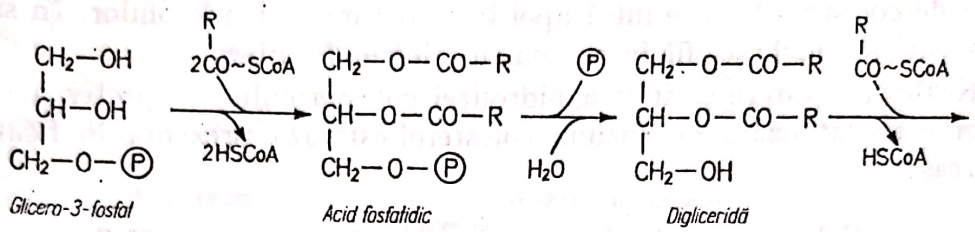
Fig. 10.21. Transformarea glicerolului în acetil-CoA.

Anabolismul glicerolului. Pentru formarea glicerolului este necesar glicerofosfat. Acesta ia naştere din glucoză, prin intermediul esterilor fosforici pînă la triozofosfaţi, de la care prin hidrogenare în prezenţă de NADH şi gliceroaldehiddehidrogenază se formează glicerofosfat.

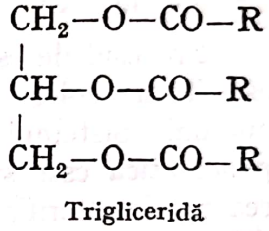


Aceasta este calea principală de formare, dar poate lua naştere şi prin fosforilarea glicerolului, însă o astfel de enzimă nu se află în ţesutul adipos, ci numai în ficat.

Anabolismul gliceridelor sau lipogeneza. În formarea gliceridelor sînt necesare următoarele componente: glicerofosfat, acizi graşi activaţi şi enzime specifice aparţinătoare transacilazelor. Mai întîi, prin condensarea acil-CoA cu glicero-3-fosfat se formează acizi fosfatidici, prin defosforilarea cărora iau naştere digliceride. La această digliceridă se cuplează apoi cea de a treia moleculă de acid gras, conform următoarelor reacţii:

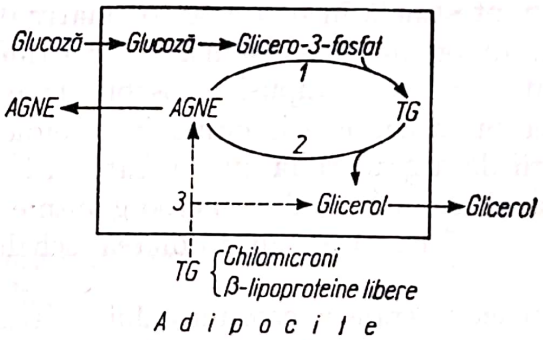


În cazul cînd biosinteza a avut loc în ficat, triglicerida trece treptat în sînge sub formă de lipoproteidă şi este transportată la diferite ţesuturi în organism.



Acizii graşi sînt legaţi de seralbumine, care constituie transportorul sanguin al acizilor graşi neesterificaţi. Concentraţia lor în sînge este relativ constantă, de 0,6 mM, datorită captării lor de către ficat şi muşchi. Acizii graşi induc în ficat biosinteza de polipeptide.

În adipocite se realizează un ciclu între lipogeneză şi lipoliză, a cărui viteză de rotaţie este în mare parte dependentă de totalul acizilor graşi neesterificaţi (AGNE) circulanţi, după cum este redat în următoarea schemă:



1: lipogeneză; 2: lipoliză (lipază adrenalinosensibilă);
3: încorporare de acizi graşi.

Prin acumularea de acizi graşi şi gliceride în ficat se produce o degenerare a acestuia. O serie de compuşi, cum sînt lecitinele, inozitolul, colina şi alte substanţe lipotrope favorizează eliminarea gliceridelor din ficat.

Lipogeneza din ţesutul adipos este stimulată de o concentraţie mărită de glucoză în sînge. Din acest motiv, o alimentaţie bogată în glucide contribuie la formarea şi depozitarea gliceridelor. De asemenea, lipogeneza este stimulată de hormonii estrogeni, care favorizează convertirea protidelor în glucide, iar acestea din urmă pot lua şi calea de formare a gliceridelor.

Biosinteza trigliceridelor are loc în citoplasmă, cu intensitate redusă, şi în microzomi, cu intensitate mai mare.

Scanned with OKEN Scanner

10.5.6. METABOLISMUL STERIDELOR

În organismele animale steridele se află în toate țesuturile, dar totdeauna în cantități mici. În cantități mai mari se află în microorganisme și în plante. Pentru animale mai importante sînt cele care derivă de la colesterol, esterificat de obicei cu acizii: palmitic, stearic sau oleic. Colesterolul este absorbit sub formă de colesteridă, care intră apoi în structura chilomicronilor. În sînge și în țesuturi, steridele se află împreună cu colesterolul liber.

Realizarea esterificării și a hidrolizei colesterolului, respectiv a colesteridelor este catalizată de enzima colesterol-esterază prezentă în ficat și în pancreas:

$$\text{Colesterol} + \text{Acid gras} \xrightarrow[\text{esterază}]{\text{Colesterol-}} \text{Colesteridă} + H_2O$$

Procesul de esterificare are loc la nivelul mucoasei intestinale, iar după esterificare colesterida trece bariera intestinală și este încorporată în chilomicroni. Sistemul enzimatic acționează diferit. Astfel, colesterolesteraza pancreatică este strict specifică, în sensul că nu este capabilă să realizeze reacția de esterificare a altor steroli, fapt ce limitează absorbția intestinală a diferiților steroli din alimentație. Colesterolesteraza hepatică catalizează esterificarea numai în prezență de ATP și de CoA, ceea ce denotă parcurgerea unui mecanism prin acil-CoA. O altă enzimă participantă la reacția de esterificare a colesterolului este lecitin-colesterol-aciltransferaza, care se află în serul sanguin și acționează la nivelul lipoproteidelor.

Catabolismul colesterolului. O parte din colesterolul din organismul animal este eliminat pe cale intestinală în fecale (aproximativ 0,7 g pe zi). Cataboli-zarea colesterolului, în organismele animale, constituie punctul de plecare pentru obținerea unei serii de compuși, deosebit de utili pentru organism, cum sînt: colecalciferolul, acizii biliari, hormonii steroidici etc. În aceste transformări au loc reacții de degradare la nivelul catenei laterale, cu menținerea în general intactă a scheletului. Multe microorganisme pot cataboliza scheletul steranic, utilizîndu-l ca sursă în formarea scheletului altor compuși organici.

Degradarea catenei laterale a colesterolului se realizează sub acțiunea țesutului hepatic, în prezență de ATP și de NAD^+.

Formarea vitaminelor D se realizează prin reacții de dehidrogenare în ciclul B și deschiderea acestui ciclu. Procesul are loc în pielea animalelor sub acțiunea radiațiilor solare.

Colecalciferolul (vitamina D_3) se formează din 7-dehidrocolesterol. Colecalciferolul format este hidroxilat la C-25 și C-1 în ficat și în țesutul renal, pentru a da naștere la 25-hidroxicolecalciferol și 1,25-dihidroxicolecalciferol, care sînt forme active asupra metabolizării calciului din oase și cu acțiune secundară asupra absorbției intestinale a calciului.

Formarea acizilor biliari are loc în ficat. Aproape 40—50% din colesterolul animal este catabolizat oxidativ pînă la acizi biliari și constituie calea cea mai importantă de degradare a colesterolului. Procesul constă mai întîi într-o hidrogenare a dublei legături C=C și o hidroxilare la C—7 și C—12, după care urmează oxidarea catenei după mecanismul β-oxidării acizilor grași

Scanned with OKEN Scanner

α-ramificați, cu eliminarea de propionil-CoA și apariția de colil-CoA, conform reacțiilor date în figura 10.22.

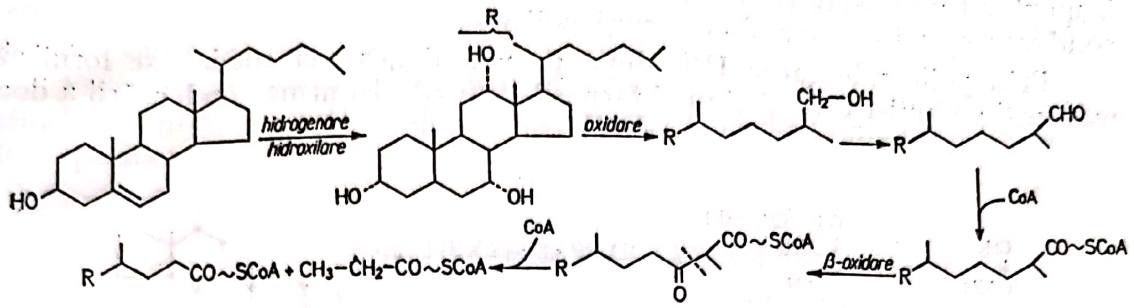


Fig. 10.22. Formarea acizilor biliari din colesterol.

Colil-CoA rezultat participă apoi la reacția de cuplare cu glicocol sau cu taurină și formează acizi biliari conjugați.

$$R—CO\sim SCoA + H_2N—CH_2—COOH \rightarrow R—CO—NH—CH_2—COOH + CoA$$

$$R—CO\sim SCoA + H_2N—CH_2—CH_2—SO_3H \rightarrow R—CO—NH—CH_2—$$
$$—CH_2—SO_3H + CoA$$

Acizii biliari au un efect retroreglator asupra degradării colesterolului. Prin ciclul enterohepatic acizii biliari sînt reduși în ficat, fapt ce determină accelerarea degradării colesterolului.

Formarea hormonilor steroidici are loc în glande specializate. Procesul este complex și decurge în mai multe etape, afectînd în primul rînd catabolizarea catenei laterale. Ca urmare, rezultă hormoni cu C_{21}, degradarea continuă pînă la îndepărtatea completă a catenei laterale din poziția C—17. Degradarea se face în prezență de oxigen și NADPH, printr-o reacție de tip hidroxilazic.

Anabolismul colesterolului. Pe lîngă colesterolul provenit din hrană, organismele animale au capacitatea de a sintetiza acest compus. Prin utilizarea izotopilor radioactivi s-a putut demonstra faptul că toți atomii de carbon provin din acetat și anume carbonul marcat este redat în structura colesterolului printr-un punct îngroșat. Calea biosintetică parcurge șase etape importante:

— condensarea acetil-CoA cu formarea, în final, de acid β-hidroxi-β-metilglutaric (AHMG);

— reducerea AHMG la acid mevalonic;

— fosforilarea și decarboxilarea acidului mevalonic la izopentenil-pirofosfat;

— condensarea izopentenilpirofosfatului în derivați poliizoprenici;

— ciclizarea scualenului în lanosterol;

— transformarea lanosterolului în colesterol.

Punctul de plecare în biosinteză îl constituie deci acetil-CoA, care în urma condensării succesive, duce mai întîi la acetoacetil-CoA, apoi la β-hidroxi-β-metil-glutaril-CoA, de la care prin hidrogenare cu NADPH se formează acidul mevalonic. Aceste etape sînt redate în figura 10.23.

Scanned with OKEN Scanner

Acidul mevalonic este punctul nodal în biosinteza multor compuși steroidici și carotinoidici. Acest acid cu șase atomi de carbon se transformă în izopentenil-pirofosfat (IPP), care este capabil să ia parte la reacții de policondensare în formarea de compuși polienici.

Prin policondensarea IPP după principiul „cap la coadă" se formează mai întîi geranil-PP (C_{10}) și apoi farnesil-PP(C_{15}). În urma condensării a două

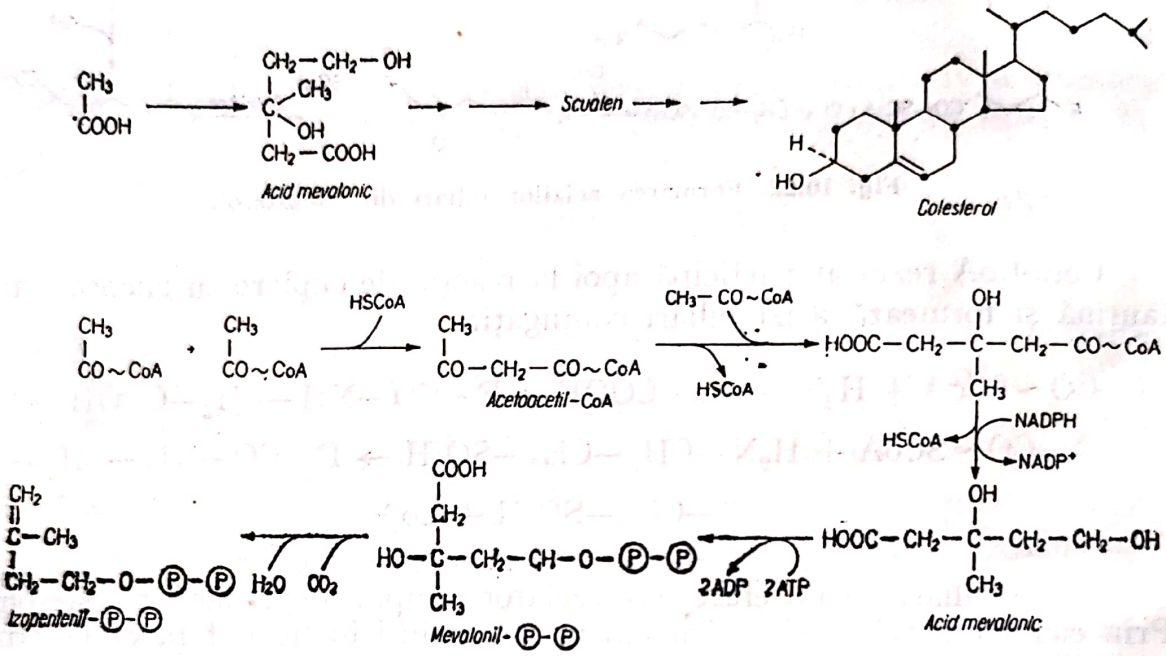


Fig. 10.23. Formarea izopentenil-pirofosfatului din acetil-CoA.

molecule de farnesil-PP, prin unire „cap la cap" se formează scualenul (C_{30}) care este capabil să se oxideze și să se ciclizeze la lanosterol (fig. 10.24).

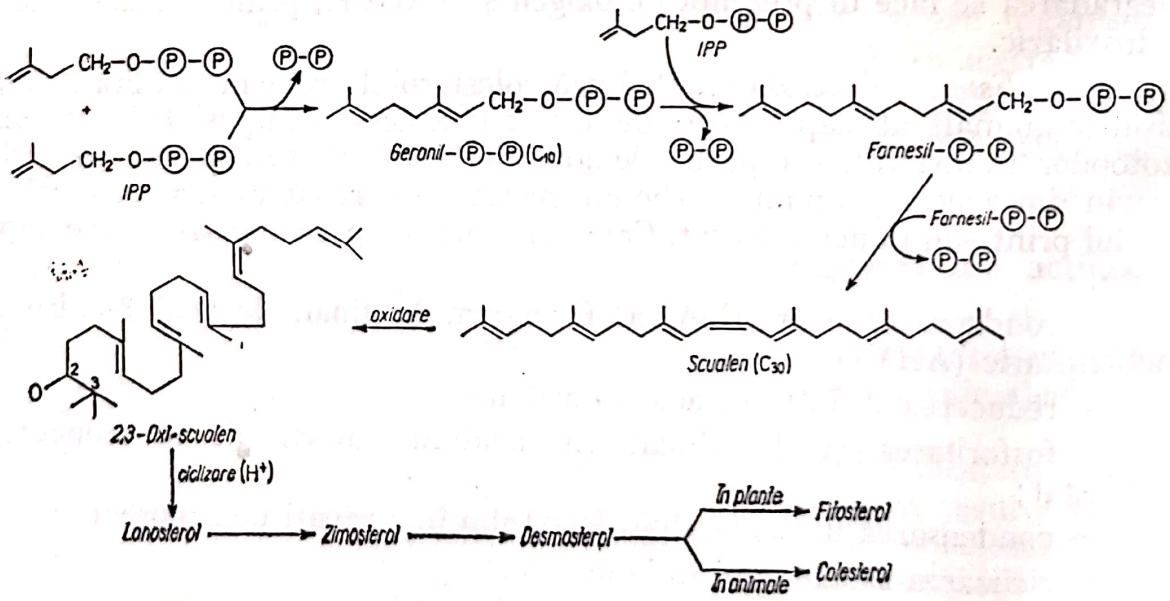


Fig. 10.24. Formarea colesterolului din izopentenil-pirofosfat.

Transformarea lanosterolului implică pierderea a trei grupări CH_3, sub formă de CO_2, rezultînd mai întîi zimosterol și apoi desmosterol, care se deosebesc prin poziția dublei legături din sistemul ciclic. Biosinteza colesterolului

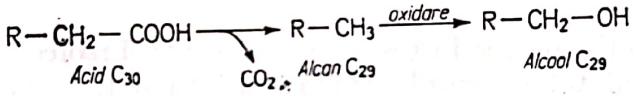
din acetat a fost dovedită experimental la vertebrate şi anume: în ficat, în suprarenale, în gonade, în piele, în intestine, în sistemul nervos şi în timus. Date recente au confirmat faptul că cea mai mare parte a biosintezei colesterolului se realizează în intestin, iar valoarea sintezei este invers proporţională cu valoarea coeficientului de absorbţie a colesterolului alimentar.

Formarea sterolilor şi a acizilor graşi din acetil-CoA se diferenţiază într-o etapă biosintetică foarte timpurie, ca urmare a blocării unei etape cu inhibitori specifici.

10.5.7. METABOLISMUL CERIDELOR

Întrucît această grupă de lipide simple sînt puţin răspîndite, cercetările afectate catabolismului şi anabolismului lor au fost destul de restrînse. Catabolizarea ceridelor constă mai întîi în hidroliza şi apoi în degradarea acizilor graşi şi a alcoolilor superiori pe calea β-oxidării.

Formarea acizilor graşi din structura ceridelor animale se realizează din alţi acizi graşi pe calea elongaţiei. Astfel, acizii graşi C_{30} se formează din acid palmitic prin condensare cu malonil-CoA. În urma decarboxilării acizilor C_{30} rezultă hidrocarburi cu C_{29}, care de asemenea sînt componente ale ceridelor.



Condensarea acizilor graşi cu alcooli superiori în formarea ceridelor se poate realiza în mai multe moduri, şi anume: prin transferul unui rest acil de pe o fosfolipidă şi un alcool superior, prin esterificare, sub acţiunea unei esteraze obişnuite, sau în prezenţa unei acil-CoA-transferaze.

Prin reacţii asemănătoare formării alcanilor se formează hidrocarburile saturate şi nesaturate în insecte. O parte din hidrocarburile nesaturate şi alcoolii cu catenă lungă, precum şi esterii acestora alcătuiesc grupa feromonilor, cu care insectele comunică între ele.

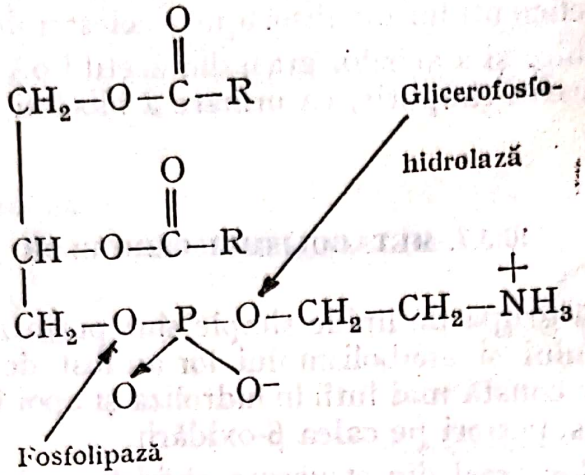
10.5.8. METABOLISMUL GLICEROFOSFOLIPIDELOR

Deoarece glicerofosfolipidele sînt componente ale oricărei celule vii şi au rol deosebit de important pentru animale, ele au fost amplu cercetate sub diferite aspecte. Ele sînt componente structurale ale pereţilor celulari şi posedă capacitatea de a se fixa la limita de separare dintre mediul hidrofil şi hidrofob, proprietate determinată de prezenţa în molecula lor a inozitolului, colaminei, colinei, serinei şi restului de acid fosforic. Datorită caracterului lor de amfion, ele participă la formarea structurilor lipoproteidice din membranele celulare, precum şi la alcătuirea chilomicronilor.

Catabolismul glicerofosfolipidelor. Prima etapă şi cea mai importantă în catabolizarea lor este hidroliza. Ele sînt hidrolizate de enzime specifice, fiecare tip de legătură avînd enzima sa specifică. Aceste glicerofosfataze au substrate diferite, şi anume: cefalinele sînt hidrolizate de colaminfosfataze, lecitinele de către lecitinaze ş.a.m.d. Aşa, de exemplu, glicerofosfolipida de tipul următor este hidrolizată de mai multe enzime. Hidroliza glicerofosfolipidelor este

Scanned with OKEN Scanner

realizată și de o serie de hidrolaze nespecifice, care contribuie astfel la hidroliza moleculelor parțial degradate. Unele enzime ale glicerofosfolipidelor intervin în transferul de rest acil. Astfel, sub acțiunea lecitin-colesterol-acil-trans-

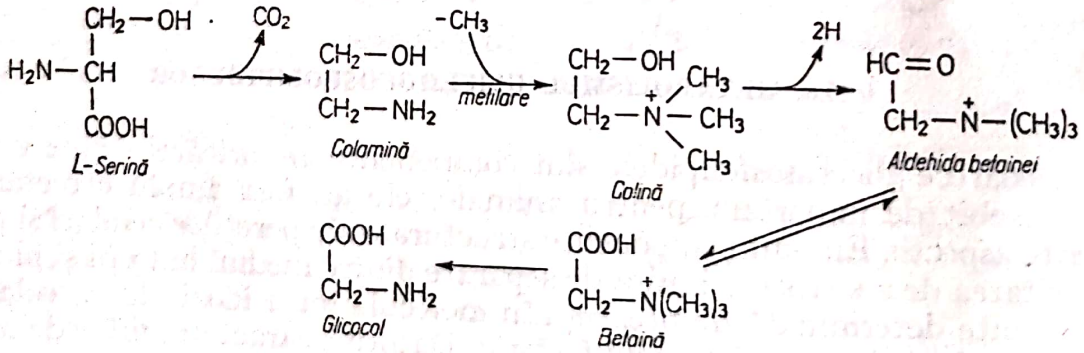


ferazei de la lecitină se poate transfera restul de acid gras unei molecule de colesterol:

$$\text{Lecitină} + \text{Colesterol} \overset{\text{LCAT}}{\rightleftharpoons} \text{Lizolecitină} + \text{Colesterol esterificat.}$$

Această reacție are loc în țesuturi și în sînge. Lizolecitinele astfel formate sînt imediat reacilate. Sistemul enzimatic LCAT mai este întîlnit și în intestin și în ficat, iar lipsa acestei enzime produce grave tulburări metabolice.

Componentele rezultate în urma procesului de hidroliză sînt folosite în procesul de înnoire a acestora sau sînt degradate mai departe. Glicerolul și acizii grași sînt catabolizați pe căile arătate. Celelalte componente sînt de asemenea transformate. Astfel, inozitolul este transformat în glucoză și intră în ciclul catabolic al glucidelor. Serina din serinfosfatide este transformată după căile de catabolizare ale aminoacizilor sau poate fi folosită în sinteza proteinelor. Colamina poate fi transformată în colină și apoi în betaină.



În continuare, betaina este transformată prin demetilări succesive pînă la glicocol, iar acesta poate să intre în catabolismul aminoacizilor.

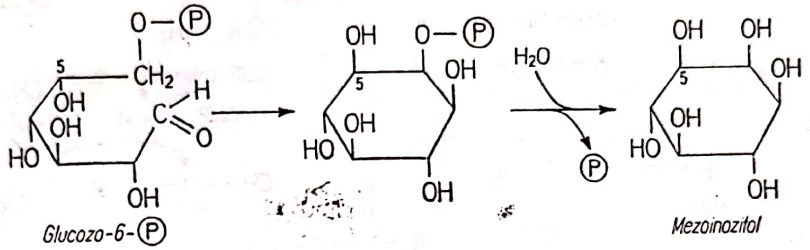
Anabolismul glicerofosfolipidelor. Pentru biosinteza acestor lipide sînt necesari acizi grași, glicerol, colamină, colină, serină, inozitol și acid fosforic. Biosinteza acizilor grași și a glicerolului a fost arătată mai înainte. Din serină se poate forma colamina și apoi colina, iar serina se poate forma din glicocol sau poate rezulta din proteine sau din glucide.

La om, s-a dovedit că formarea fosfatidilserinei se realizează din fosfatidilcolamină printr-un proces de schimbare între colamină și serină liberă.

Scanned with OKEN Scanner

Fosfatidilserina formată poate fi decarboxilată la nivelul serinei și să treacă în fosfatidilcolamină, alcătuind un ciclu de catabolizare a serinei:

Formarea inozitolului în organismele animale se realizează din glucoză. Mezoinozitolul se formează din glucozo-6-fosfat, după următoarea reacție:



Reacția de ciclizare (aldolizare) este însoțită de o modificare în configurație la C—5.

În bacterii mezoinozitolul poate fi convertit la acid glucuronic, în prezența unei oxigenaze:

$$\text{mezoinozitol} \xrightarrow[O_2]{\text{oxigenază}} \text{acid glucuronic}$$

Este cunoscut faptul că inozitolpentafosfatul este un activator allosteric pentru hemoglobină la păsări. El se află în plante, de unde și proveniența sa pentru inozitofosfatidele animale.

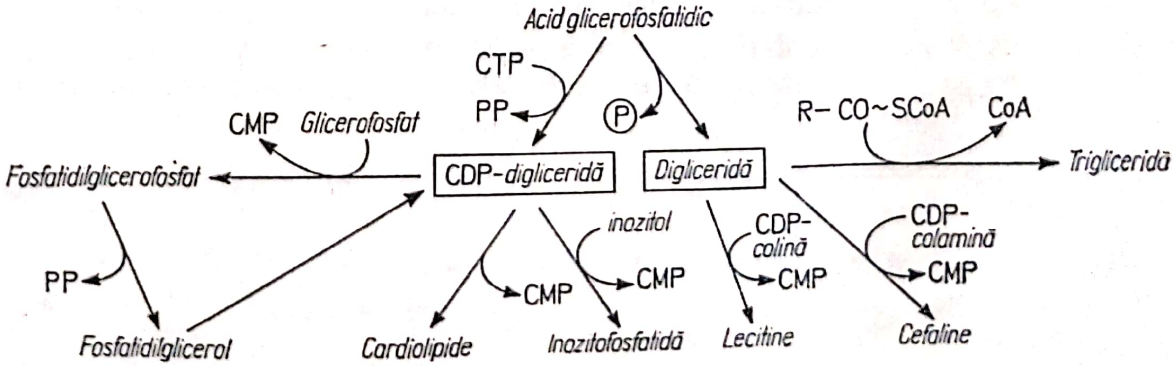
Anabolismul diferitelor glicerofosfolipide din componentele arătate se realizează în reticulul endoplasmatic și decurge pînă la un loc pe o cale comună cu a gliceridelor, și anume pînă la formarea acizilor fosfatidici pentru unele și de la digliceride pentru altele.

Acidul fosfatidic este un compus metabolic foarte reactiv, demonstrînd o foarte rapidă încorporare a fosfatului în fosfolipide la nivelul tuturor țesuturilor. Sinteza lui este catalizată de o digliceridkinază în prezența ATP, iar catabolizarea lui de către o fosfatidilfosfatază:

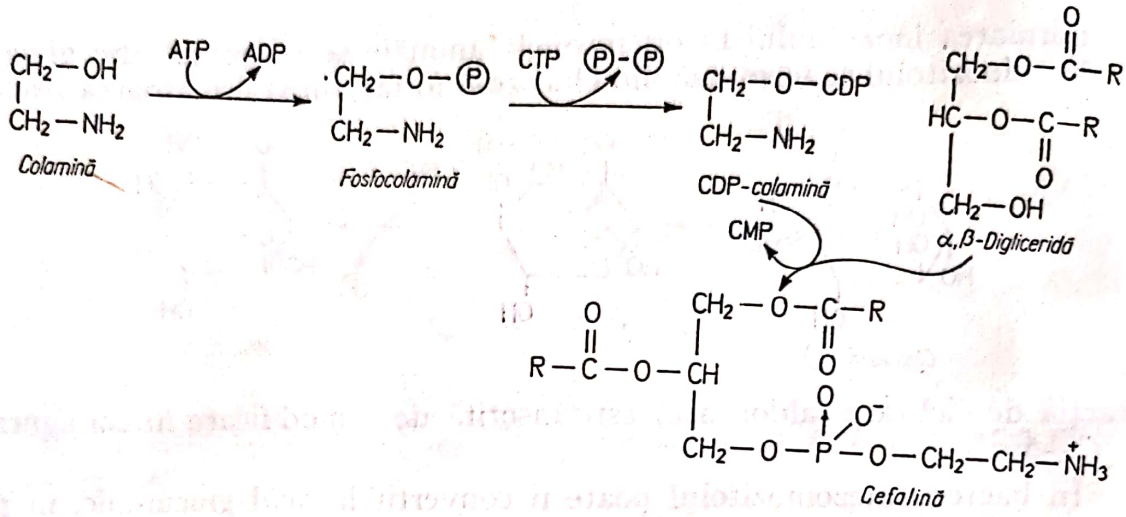
$$\text{Digliceridă} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{kinază}} \text{acid fosfatidic} + \text{ADP}$$

$$\text{Acid fosfatidic} \xrightarrow{\text{fosfatază}} \text{Digliceridă} + \text{fosfat}$$

Acidul glicerofosfatidic se regăsește în formarea pe de o parte a glicerofosfolipidelor neazotate, iar pe de altă parte a glicerofosfolipidelor azotate și a trigliceridelor.

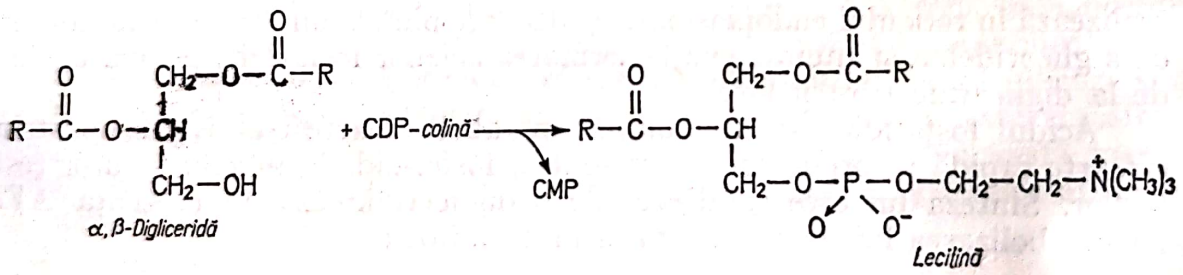


Biosinteza cefalinelor se realizează la nivelul ficatului din fosfocolamină activată și dintr-o digliceridă. Așa cum s-a arătat, în prima etapă colamina este fosforilată de ATP, apoi activată de către citidintrifosfat (CTP), cu formare de citidinfosfocolamină (CDP-colamină), care este capabilă să se condenseze cu o digliceridă.



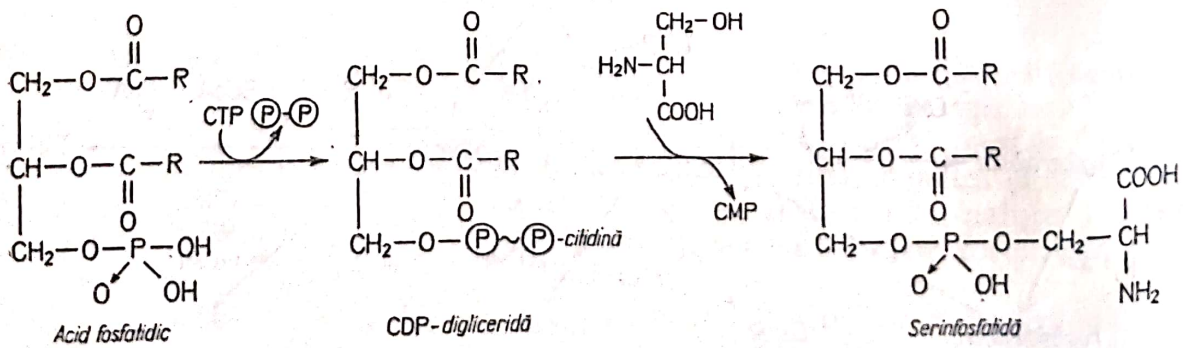
Digliceridele necesare esterificării rezultă fie din acizi fosfatidici, fie din hidroliza parțială a trigliceridelor.

În anabolismul lecitinelor se pleacă de la fosfocolină activată, ca și în cazul cefalinelor pînă la CDP-colină, care apoi se unește cu o α, β-digliceridă. Sinteza are loc în ficat.



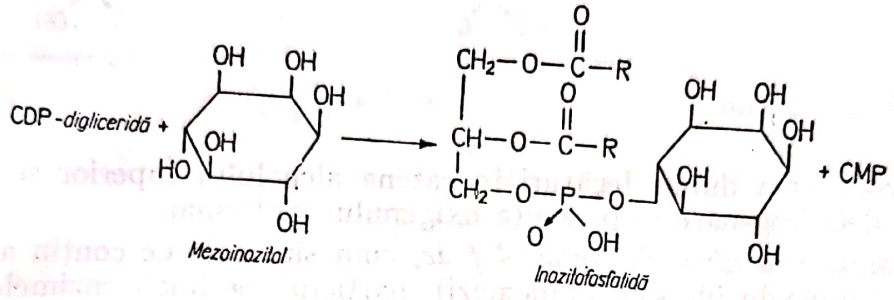
Enzima care catalizează reacția de esterificare a CDP-colinei cu diglicerida este fosfocolingliceridtransferaza și a fost izolată din ficatul de pui de găină.

Formarea serinfosfatidelor are loc din acizi fosfatidici, *L*-serină și citidintrifosfat. Mai întîi, acidul fosfatidic sub acțiunea citidintrifosfatului este transformat în CDP-digliceridă, care se condensează cu serină:

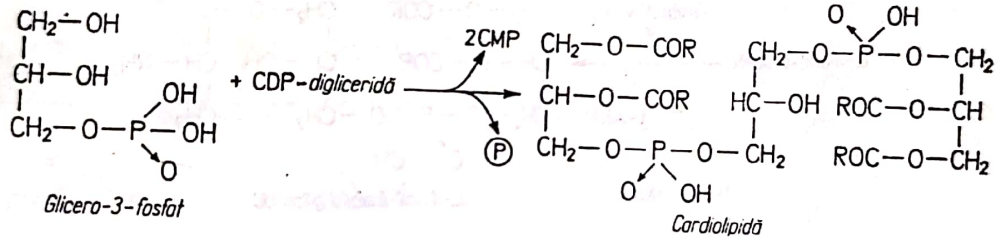


În ficat a fost semnalată și o altă cale de formare a serinfosfatidelor, și anume din L-serină și colaminfosfatidă printr-o reacție de transfer, conform următoarei ecuații: L-serină + Colaminfosfatidă → Serinfosfatidă + Colamină.

Inozitofosfatidele se formează în organismele animale dintr-o digliceridă activată și mezoinozitol:



Biosinteza cardiolipidelor se realizează prin condensarea unei molecule de CDP-digliceridă și alta de glicero-3-fosfat:



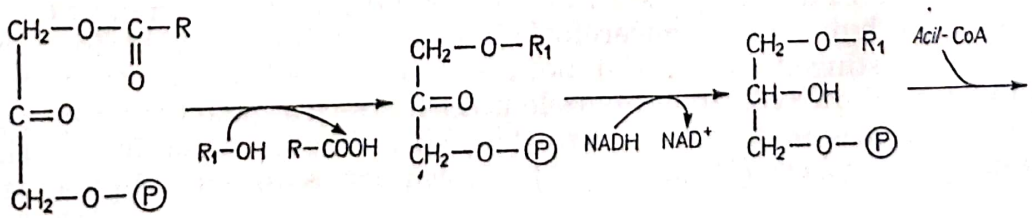
Această reacție decurge de fapt în mai multe etape în care mai întîi se condensează glicero-3-fosfatul cu CDP-digliceridă, iar apoi fosfatidilglicerofosfatul format elimină o moleculă de acid fosforic sub acțiunea unei fosfataze și formează fosfatidilglicerol, care se condensează cu CDP-digliceridă:

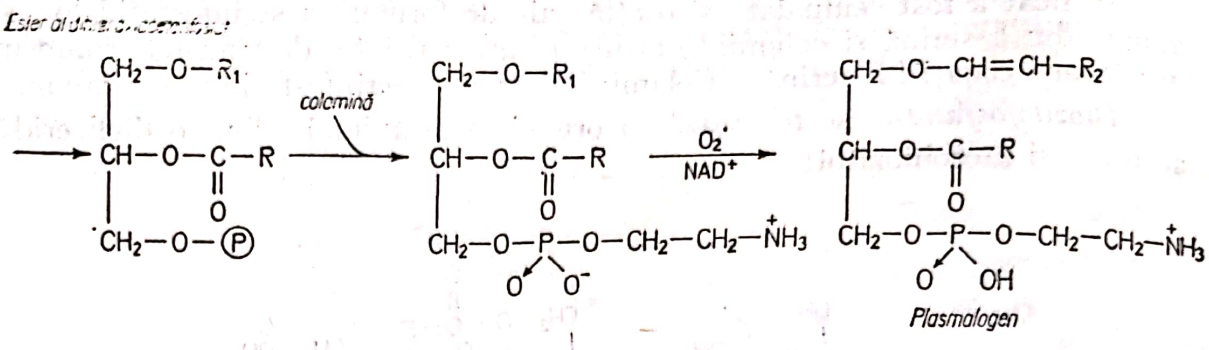
Glicero-3-fosfat + CDP-digliceridă → Fosfatidilglicerofosfat + CMP;

Fosfatidilglicerofosfat $\xrightarrow{\text{Fosfatază}}$ Fosfatidilglicerol + Ⓟ;

Fosfatidilglicerol + CDP-digliceridă → Cardiolipidă + CMP.

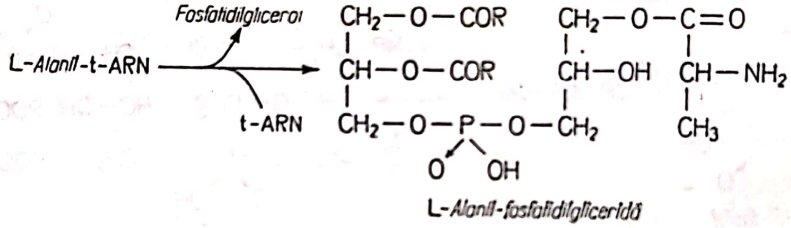
Biosinteza plasmalogenilor se realizează dintr-un ester cu acid gras al dihidroxiacetonfosfatului, care în urma unei reacții de alcooliză este substituit acidul gras cu alcool. Principalele etape pot fi redate astfel:





Introducerea dublei legături în catena alcoolului superior se realizează printr-o dehidrogenare în prezența oxigenului molecular.

În biosinteza altor glicerofosfolipide, cum sînt cele ce conțin alt compus cu azot (aminoglucide sau aminoacizi), participă pe lîngă enzimele specifice și acizii ribonucleici de transfer (*t*ARN), care activează aminoacizii participanți la reacție. Forma activă a aminoacizilor este aminoacil-*t*ARN. Astfel, biosinteza unei glicerofosfolipide cu alanină se desfășoară după următoarea reacție:



În organismele animale astfel de glicerofosfolipide reprezintă un procent mic din totalul fosfolipidelor, dar ele sînt de mare importanță în menținerea integrității membranelor celulare.

10.5.9. METABOLISMUL SFINGOLIPIDELOR

Sfingolipidele sînt componente ale sistemului nervos, precum și ale sistemului reticulohistocitar (ganglioni, splină etc.), ceea ce denotă că lor le revine un rol însemnat în organismele animale. Ele sînt surse energetice pentru organism, datorită acizilor grași pe care îi pun în libertate în vederea catabolizării; îndeplinesc rolul de componente ale membranlor celulare; sînt transportori de electroni și componente ale mitocondriilor, unde au loc procese intense de oxidoreducere; participă la coagularea sîngelui.

Catabolismul sfingolipidelor. Cu toate funcțiile multiple îndeplinite de sfingolipide, catabolismul lor este încă în mică măsură cunoscut. Nu se cunosc toate enzimele implicate în catabolismul lor, dar se crede că aceleași enzime care hidrolizează glicerofosfolipidele pot interveni și în scindarea hidrolitică a sfingolipidelor. Catabolizarea sfingolipidelor se efectuează mai ales în lizozomi care conțin hidrolazele necesare (β- și α-galactozidaze, β-glucozidaze, β-hexozaminidaze etc.). Prin hidroliza sfingolipidelor în prezență de fosfatidilacilhidrolază (fosfalipază A) se formează o lizosfingolipidă, iar sub

acțiunea fosfatidilcolinfosfohidrolazei (fosfolipază C) rezultă o ceramidă și fosfocolină (fig. 10.25).

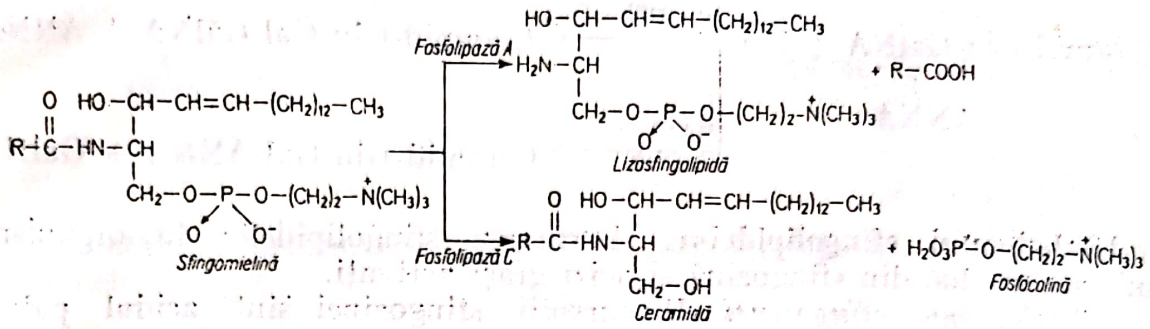
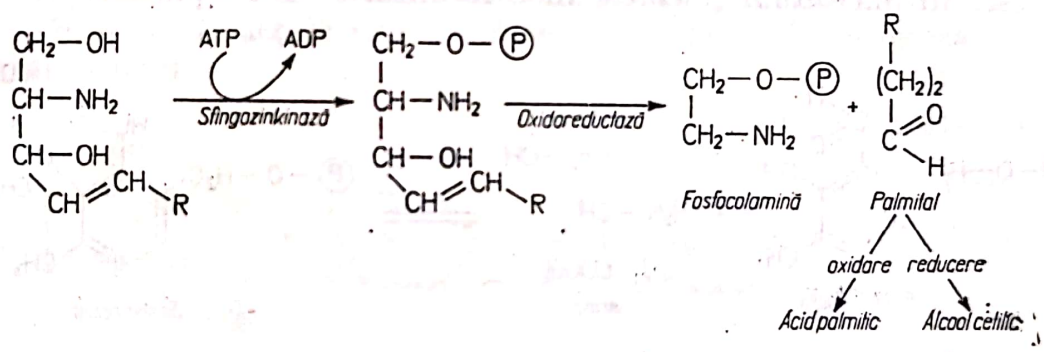


Fig. 10.25. Catabolizarea sfingolipidelor.

Substanțele rezultate în aceste reacții de hidroliză pot fi utilizate de către organism în procesul de înnoire a sfingolipidelor sau pot fi catabolizate. Astfel, o ceramidă este hidrolizată de către o ceramidază în sfingozină și acid gras. Sfingozina rezultată este catabolizată pînă la fosfocolamină și palmital:



Această cale metabolică poate servi la aprovizionarea celulei cu fosfocolină necesară în biosinteza glicerolipidelor. Reacția globală în formarea fosfocolinei este următoarea:

$$\text{Serină} + \text{Palmitil} - \text{CoA} + \text{ATP} + \text{NADPH} \rightarrow \text{NADP}^+ + \text{CoA} + \text{CO}_2 +$$

$$+ \text{Palmital} + \text{Fosfocolină}$$

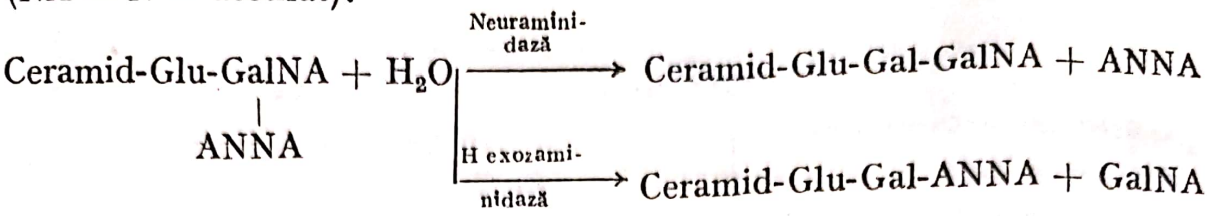
Catabolizarea glicosfingolipidelor decurge în mod specific, sub acțiunea unor enzime specifice restului de glucidă. Astfel, glucocerebrozidele sînt hidrolizate la ceramide de către glucozilceramid-β-glucozidază, care este prezentă în leucocite. Absența acestei enzime în maladia Gaucher sau reticuloendotelioză duce la acumularea glucocerebrozidelor.

Enzimele specifice de hidroliză ale galactocerebrozidelor, așa-numite galactocerebrozidaze se găsesc în formațiunile celulare lizozomice ale inimii, splinei, ficatului, rinichiului etc.

Hidroliza sulfatidelor în sulfat și glicolipidă este catalizată de o sulfatidsulfatază, care a fost identificată în diferite țesuturi și urină. Lipsa acestei enzime este cauza leucodistrofiei metacromatice, întrucît nu se poate realiza scindarea restului sulfat.

Scanned with OKEN Scanner

Catabolismul gangliozidelor începe prin scindarea restului de ANNA (acid neuraminic N-acetilat), aflat în ramificație, după exemplul următor (NA = N — acetilat):



Anabolismul sfingolipidelor. Formarea sfingolipidelor în organismele animale are loc din sfingozină și acizi grași activați.

Anabolismul sfingozinei. Precursorii sfingozinei sînt acidul palmitic și serina. Serina furnizează restul din molecula sfingozinei care conține grupările hidroxil și amino.

Enzimele care catalizează formarea sfingozinei au drept coenzime piridoxalfosfat, $NADP^+$ și FAD. Procesul decurge prin etapele redate în figura 10.26.

Sfinganina sau dihidrosfingozina este un compus comun în formarea sfingolipidelor animale.

Localizarea intracelulară a enzimelor responsabile în biosinteza sfingozinei este în microzomi și corespunde localizării sfingolipidelor.

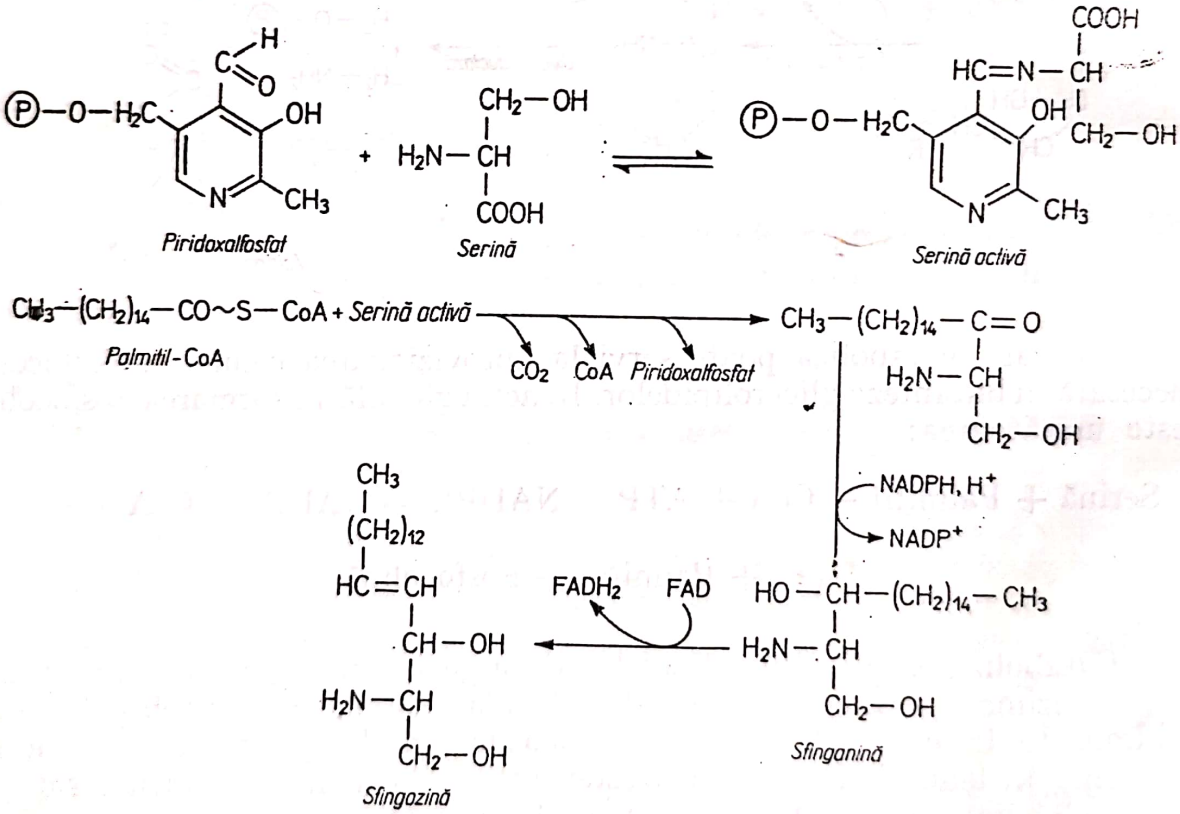
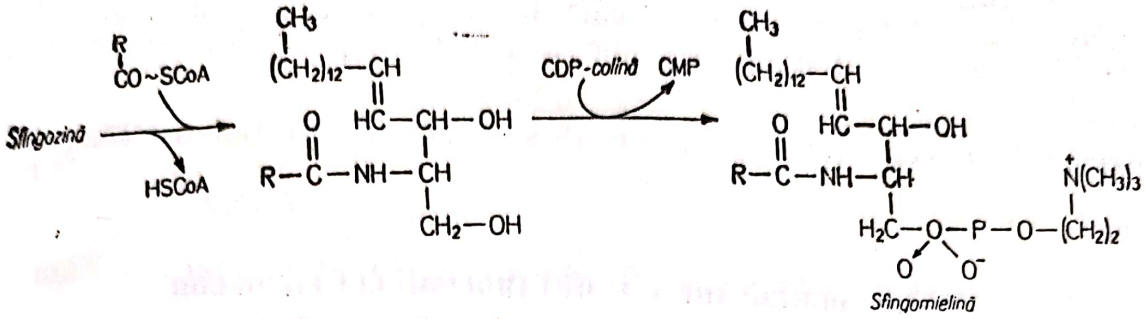


Fig. 10.26. Anabolismul sfingozinei.

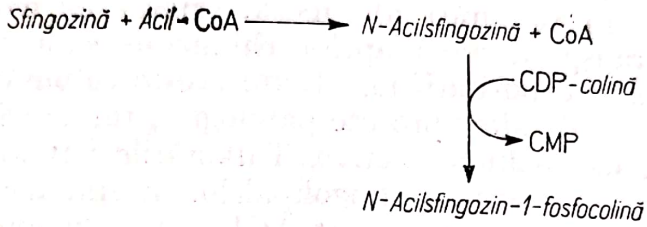
Anabolismul sfingomielinelor. În formarea sfingomielinelor rezultă mai întîi ceramide ca urmare a condensării sfingozinei cu acil-CoA după care are loc cuplarea cu citidindifosfocolină.

Anabolismul cerebrozidelor, sulfatidelor și gangliozidelor. În anabolismul acestor sfingolipide cu rest glucidic participă enzime specifice, cum sînt N-

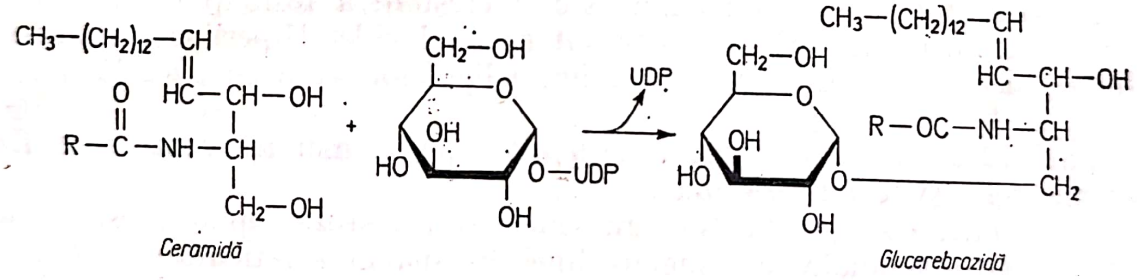
Scanned with OKEN Scanner



aciltransferazele. Se formează mai întîi o ceramidă, care este precursorul sfingomielinelor:



În biosinteza cerebrozidelor procesul este comun cu cel de formare a ceramidelor. Prin cuplarea ceramidei cu glucida activată, de exemplu cu galactozo-UDP, rezultă galactocerebrozide, iar cu glucozo-UDP se formează glucocerebrozide. Reacțiile sînt catalizate de galactoziltransferază, respectiv glucoziltransferază.



Pentru *biosinteza sulfatidelor* pe lîngă cerebrozidă este necesar și sulfat activ, capabil să cedeze și să fixeze esteric un rest de sulfat (fig. 10.27).

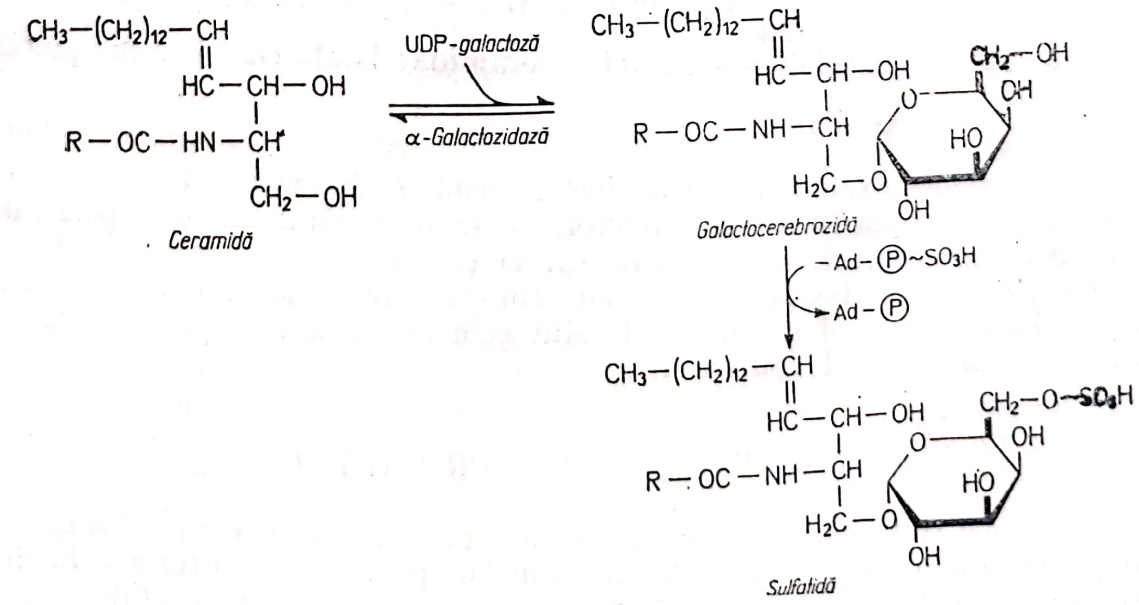


Fig. 10.27. Biosinteza sulfatidelor.

În formarea *gangliozidelor* participă mai multe glucide, de diferite tipuri, dar toate sub forma activată în compuși cu legături macroergice. Astfel, lungimea catenei poliglucidice se realizează printr-o reacție de transferare:

$$\text{Ceramid-Glu-Gal-ANNA} + \text{UDP-GalNa} \rightarrow \underset{\text{ANNA}}{\text{Ceramid-Glu-Gal-GalNA}} + \text{UDP}$$

10.5.10. DEREGLĂRI ALE METABOLISMULUI LIPIDELOR

În metabolismul lipidelor se pot produce diferite dereglări, cunoscute sub numele de lipidoze. Aceste tulburări constau în tulburări de digestie și adsorbție sau în tulburări ale mecanismului de mobilizare a lipidelor depozitate, de transport, ale etapelor chimice de catabolizare sau anabolizare, ale excreției și depozitării lor. Toate aceste tulburări sînt de cele mai multe ori secundare ale altor procese patologice, tulburări reprezentînd doar o verigă a patogeniei bolii respective. Tulburările patologice sînt mai frecvent întîlnite în metabolismul sfingolipidelor și sînt denumite dislipoidoze sau sfingolipidoze. Serul conține atît AGL, cît și lipoproteine.

Hiperlipemia este o stare patologică caracterizată prin creșterea anormală a gliceridelor în sînge, ceea ce conferă acestuia o lactescență deosebită. Hiperlipemia atinge valori medii de 1800 mg%. Se cunosc mai multe tipuri de hiperlipemii. Astfel, hipercolesterolemia constă în creșterea concentrației colesterolului, hipergliceridemia se caracterizează printr-un conținut mărit de gliceride, iar hiperfosfolipemia este o creștere a fosfolipidelor. Hiperlipemia poate fi indusă atît de lipide, cît și de glucide. Hiperlipemia poate fi indusă îndeosebi de mobilizarea exesivă a lipidelor, ceea ce duce la o creștere a AGL.

Tulburări cauzate de depozitarea lipidelor. Cele mai frecvente sînt sfingomielinozele și cerebrozidozele.

Sfingomielinoza (boala Niemann-Pick sau histoza lipidică) se caracterizează prin acumularea sfingomielinei în sistemul reticuloendotelial, în celulele nervoase și în alte țesuturi. Cauza bolii constă într-o deficiență de hidroliză enzimatică:

ceramid-Ⓟ—colină → ceramidă. Alte dislipoidoze sfingolipidice sînt: boala Scholtz: sulfatidă → galactoz-ceramidă; boala Gaucher în: glucoz-ceramidă → ceramidă.

Cerebrozidozele sau boala Gaucher constă în formarea de cerebrozide anormale cu glucoză în loc de galactoză, care se acumulează și depozitează în celulele reticuloendoteliale (ficat, splină și măduvă).

Gangliozidozele (boala Tay-Sachs) constau într-o acumulare anormală de gangliozide, în care gangliozidele sînt scindate hidrolitic prin desfacerea unei molecule de acid neuraminic.

10.6. METABOLISMUL PROTIDELOR

Protidele sînt substanțe de importanță primordială pentru organismele vii și îndeplinesc funcții multiple. Ele sînt componente ale tuturor celulelor animale și sînt necesare creșterii și refacerii țesuturilor uzate. Protidele au și

rol funcțional, întrucît dirijează procesele metabolice prin rolul lor de enzime și de hormoni. Datorită caracterului amfoter și coloid, protidele participă la diverse procese de reglare, cum sînt: reglarea echilibrului acidobazic, a echilibrului electrostatic, a echilibrului ionic, a presiunii osmotice etc. Protidele îndeplinesc și un rol energetic, întrucît pot fi degradate pînă la CO_2 și H_2O.

10.6.1. MECANISMUL DIGESTIEI, ADSORBȚIEI ȘI VEHICULĂRII PROTIDELOR

Cum alimentația este, în general, săracă în aminoacizi, dar relativ bogată în protide, organismul animal este nevoit să supună digestiei protidele ingerate în vederea absorbției aminoacizilor.

Digestia. Digestia protidelor din alimente începe prin hidroliza lor de către peptidaze. Întrucît saliva nu conține astfel de enzime, digestia lor începe în stomac sub acțiunea peptidazelor din sucul gastric.

Hidroliza decurge treptat cu formare de peptide cu molecule din ce în ce mai mici pînă la stadiul de aminoacizi, forma de absorbție a protidelor. Procesele biochimice ale digestiei sînt aceleași atît la animalele monogastrice, cît și la rumegătoare și păsări. Digestia este însă diferită pe parcursul aparatului gastrointestinal.

Digestia proteidelor în stomac. În stomac se află peptidaze, cum sînt: pepsina și chimozina care, fiind endopeptidaze, vor scinda hidrolitic proteidele la peptide, iar asupra acestora vor acționa exopeptidazele. Pepsina este activată în stomac de către HCl, care activează atît transformarea pepsinogenului în pepsină, cît și procesul de îmbibare a proteinelor cu apă. Proteidele îmbibate cu apă sînt mult mai ușor hidrolizate de către pepsină. Mai mult, pepsina atacă macromoleculele proteice în mai multe puncte, de preferință legăturile peptidice dintre tirozină sau fenilalanină și un aminoacid dicarboxilic (acid aspartic sau glutamic). Prin acțiunea concomitentă a pepsinei și a acidului clorhidric asupra proteidelor rezultă fragmente polipeptidice cu molecule din ce în ce mai mici pînă la peptide, aceasta depinzînd de durata acțiunii lor. Pepsina nu hidrolizează keratinele, fapt pentru care aceste proteide trec netransformate prin tubul digestiv și sînt eliminate ca atare prin fecale.

Chimozina, care se află alături de pepsină, dar numai în stomacul mamiferelor tinere în faza de hrănire cu lapte, produce coagularea cazeinei din lapte. Chimozina scindează hidrolitic nu numai cazeina, respectiv cazeinogenul, ci și alte proteine aflate în soluții puternic acidulate, dar în condiții în care pepsina este încă inactivă. Cazeina precipitată de către chimozină este hidrolizată de pepsină pînă la peptide.

Hidroliza proteidelor în stomac nu este completă, astfel că circa 30% scapă de sub acțiunea pepsinei.

Digestia proteidelor în prestomace. Digestia proteidelor la animalele rumegătoare sau poligastrice are loc sub acțiunea microorganismelor din prestomace, care produc atît hidroliza prin scindarea a cel puțin jumătate din proteidele alimentare, cît și transformări ale aminoacizilor în urma cărora rezultă cantități mari de amoniac. O parte din aminoacizi sînt utilizați de către microorganisme pentru sintetizarea proteidelor proprii. Amoniacul este utilizat și el în prestomace la biosinteza de aminoacizi. Prin faptul că microorganismele au capacitatea de a sintetiza toți aminoacizii de care au nevoie din amoniac și substanțe organice ternare, în vederea construirii de

Scanned with OKEN Scanner

proteide proprii, în prestomace are loc și conversia unei părți din aminoacizi neesențiali proveniți din hrană în aminoacizi esențiali. Amoniacul absorbit din prestomace este utilizat de către organismul animal prin transformarea lui în azot proteic. Biosinteza aminoacizilor din amoniac în prestomace se realizează prin aminarea cetoacizilor rezultați din glucide. Tot în prestomace este utilizat și sulful anorganic pentru formarea tioaminoacizilor.

Digestia proteidelor în duoden. Proteidele trecute din stomac în duoden sînt supuse acțiunii enzimelor pancreatice. Sucul pancreatic avînd *p*H bazic limitează activitatea pepsinei, astfel că aici sînt active endopeptidazele pancreatice tripsina și chimotrispina. Ele hidrolizează pînă la peptide atît proteidele cît și polipeptidele, dar mai ușor pe cale denaturată. În sucul pancreatic se află și carboxipeptidaze, care hidrolizează în continuare peptidele rezultate, dar în mod specific, începînd de la capătul C-terminal al peptidei, dînd naștere la aminoacizi.

Cele trei enzime pancreatice sînt specifice și scindează hidrolitic diferite legături peptidice și cu viteze diferite. Astfel, tripsina hidrolizează preferențial legăturile peptidice dintre resturile de lizină și arginină, chimotripsina legăturile la care participă un aminoacid aromatic cu gruparea carboxil și un alt aminoacid oarecare care participă cu gruparea amină. Prin acțiunea enzimelor pancreatice proteidele sînt hidrolizate în mare parte la oligopeptide și numai în mică măsură la aminoacizi. Oligopeptidele sînt hidrolizate în continuare sub acțiunea enzimelor din sucul intestinal.

Nucleoproteidele sînt hidrolizate în duoden în proteide și acizi nucleici. Acizii nucleici sînt hidrolizați apoi de către enzime specifice. Astfel, acizii ribonucleici sînt hidrolizați de către ribonuclează, iar cei deoxiribonucleici de către deoxiribonuclează. Ribonucleaza scindează legăturile dintre atomul de fosfor al grupei ester fosforice din poziția 3′ a piridinnucleotidei și atomul de oxigen din poziția 5′ a nucleotidei învecinate. Reacția decurge în etape, în prima fază rezultă un ester fosforic ciclic 2′, 3′ și se desfac legăturile din poziția 5′, iar în etapa a doua are loc deschiderea ciclului fosfatic. Mononucleotidele rezultate sînt scindate apoi de către nucleotidaze în nucleozide și acid fosforic. Hidroliza aceasta nu este generală, ci nucleotidele pot fi absorbite și ca atare. În final, acizii nucleici sînt scindați în mononucleotide sau nucleozide și acid fosforic.

— *Digestia proteidelor în intestinul subțire.* Mucoasa intestinului subțire secretă o serie de exopeptidaze, cum sînt: aminopeptidaza și enterokinaza, care hidrolizează peptidele rezultate din proteide. Enterokinaza scindează legăturile peptidice din vecinătatea unor anumiți aminoacizi bazici. Aminopeptidaza, împreună cu carboxipeptidaza pancreatică, scindează peptidele la aminoacizi. Atît aminopeptidaza, cît și dipeptidaza, sînt amestecuri de sisteme enzimatice cu acțiune similară. Din aceste categorii de enzime se cunosc, de exemplu, aminotripeptidaze care hidrolizează numai aminoacidul N-terminal, fără să acționeze asupra dipeptidelor sau tetrapeptidelor. Se cunosc multe enzime cu acțiune specifică limitată asupra diferitelor dipeptide.

Ca rezultat al acțiunii enzimelor digestive, pancreatice și intestinale, proteidele sînt scindate hidrolitic la aminoacizi. Doar grupările prostetice ale porfirinoproteidelor nu sînt scindate.

— *Digestia proteidelor în intestinul gros.* În intestinul gros ajung proteidele sustrase de la digestie sau cele nedigerate. Intestinul gros nu are capacitatea de a secreta enzime, astfel cu toate transformările care au loc aici sînt realizate de enzime aduse din intestinul subțire și mai ales de către microorganisme (bacterii și protozoare). Cea mai importantă transformare produsă de către microorganismele din intestinul gros este putrefacția. Putre-

Scanned with OKEN Scanner

facția realizată de către microorganisme se produce atît asupra proteidelor, peptidelor și aminoacizilor de proveniență alimentară, cît și asupra acelora provenite din secrețiile digestive, din celulele epiteliale descuamate și chiar din microorganisme. Numai peptidele sînt hidrolizate, iar aminoacizii sînt descompuși mai departe, în primul rînd prin reacții de deaminare, de desulfurare și de decarboxilare, dînd naștere la amine biogene, fenoli, CO_2, NH_3, H_2S etc., după cum se va arăta la catabolismul proteidelor.

În intestinul gros bilirubina suferă o serie de transformări, care pot fi rezumate astfel:

Bilirubină → Mezobilirubină → Urobilinogen → Urobilină
↓
Stercobilinogen → Stercobilină

Digestia proteidelor la păsări se realizează în intestin, sub acțiunea acelorași enzime ca și la mamiferele erbivore. Locul principal al digestiei îl constituie intestinul subțire în care se află bila, sucul pancreatic și intestinul care conțin aceleași enzime ca și în cazul mamiferelor. Digestia poate continua în intestinul gros sub acțiunea microorganismelor.

Absorbția aminoacizilor. Absorbția proteidelor se poate realiza numai sub formă de aminoacizi, la nivelul peretelui intestinului subțire. Peptidele care ajung în contact cu mucoasa intestinală sînt repede hidrolizate de către peptidaze, iar aminoacizii sînt absorbiți. Mecanismul intim al absorbției nu se cunoaște încă, dar se crede că aminoacizii sînt activați prin fosforilare de către ATP. Se absorb mai repede aminoacizii naturali din seria L decît cei din seria D. Absorbția aminoacizilor dintr-un amestec se realizează printr-un fenomen de competiție, mai ușor fiind absorbiți: leucina, izoleucina, metionina și triptofanul, iar mai greu acidul glutamic și lizina. Aminoacizii cu ramificații nepolare sînt inhibitori competitivi ai absorbției. La rumegătoare absorbția aminoacizilor se realizează și în prestomace, iar la cabaline, și în stomacul propriu-zis. Aminoacizii absorbiți servesc la biosinteza proteinelor chiar în celulele mucoasei intestinale sau sînt catabolizați în acest țesut. Interesant este faptul că permeabilitatea mucoasei intestinale la animalele tinere este mai mare decît la cele adulte. Astfel, peptidele și proteidele sînt absorbite după primele ore după naștere la mînz, purcel, vițel și la alte animale, fără a fi în prealabil hidrolizate.

Aminoacizii absorbiți ajung la ficat pe cale sanguină. În sînge concentrația lor este de 4—8 mg%, ceea ce demonstrează faptul că are loc o rapidă utilizare a lor în biosinteze de proteine hepatice, plasmatice, tisulare și enzimatice.

Vehicularea. Așa cum s-a arătat, după absorbție aminoacizii sînt preluați în circulația sanguină și prin vena portă duși în primul rînd la ficat, în mare parte reținuți de acest organ, iar pe o parte sînt transportați în mușchi. În ficat, aminoacizii sînt utilizați în anabolismul proteidelor, iar o parte sînt catabolizați. În sînge rămîne totdeauna o anumită cantitate de aminoacizi care, împreună cu proteinele plasmatice, aprovizionează diferitele organe și țesuturi ale organismului.

10.6.2. METABOLISMUL AMINOACIZILOR

Prin procesele biochimice ale digestiei proteidelor rezultă aminoacizi, care sînt transformați în continuare fie prin procese de catabolizare, fie de resintetizare de noi proteide. Aminoacizii absorbiți sînt utilizați în cea mai

Scanned with OKEN Scanner

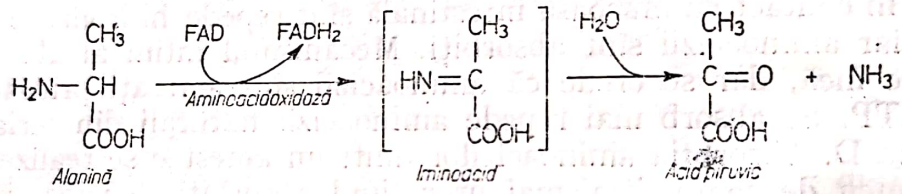
mare parte în formarea proteidelor proprii. Dar aminoacizii pot suferi diferite alte transformări la compuși mai simpli, unii fiind de importanță deosebită pentru organism. Concomitent cu furnizarea acestor compuși simpli, catabolizarea produce și energie.

10.6.2.1. PROCESE GENERALE DE CATABOLIZARE A AMINOACIZILOR

În reacțiile de catabolizare a aminoacizilor sînt afectate grupările funcționale amino și carboxil. Gruparea amino poate fi eliminată sub formă de amoniac prin procese de *deaminare* sau transferată unui cetoacid prin procese de *transaminare*. Gruparea carboxil poate suferi reacția de *decarboxilare*.

Deaminarea. Îndepărtarea grupării aminice din aminoacizi se poate face oxidativ, reductiv, hidrolitic și intramolecular. În toate deaminările rezultă un acid carboxilic și amoniac.

Deaminarea oxidativă a α-aminoacizilor duce la formarea α-cetoacidului corespunzător. Astfel, alanina este transformată în acid piruvic. Reacția de deaminare se petrece în trepte, mai întîi se formează un iminoacid, conform următoarei reacții:



$$FADH_2 + O_2 \longrightarrow FAD + H_2O_2 \; ; \; H_2O_2 \xrightarrow{\text{catalază}} H_2O + 1/2\,O_2$$

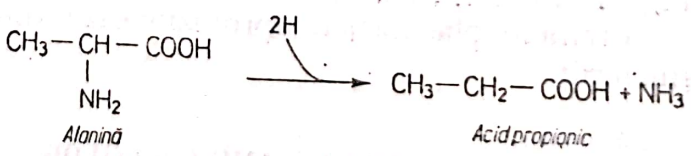
Cu excepția reacției de deaminare a glicocolului toate deaminările oxidative sînt ireversibile.

Prin *deaminarea hidrolitică* se obține un hidroxiacid:

$$R{-}\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}}{-}COOH + H_2O \rightleftharpoons R{-}\underset{\displaystyle OH}{\underset{|}{CH}}{-}COOH + NH_3$$

Acest proces este reversibil și nu este însoțit de o variație prea mare de energie, ceea ce face posibilă nu numai catabolizarea, ci și anabolizarea, dar numai a aminoacizilor neesențiali.

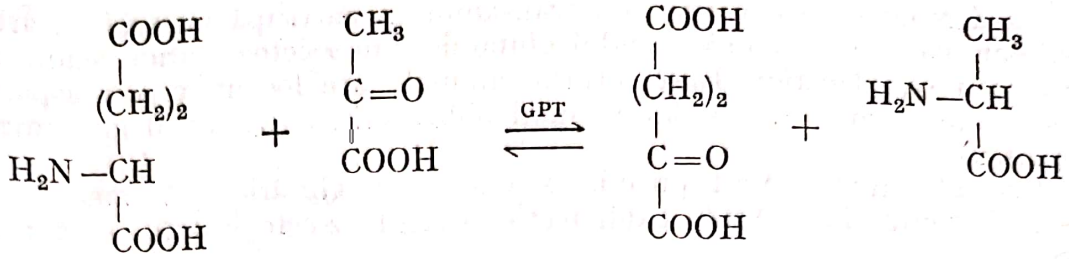
Deaminarea reductivă are loc mai rar la animale și la om, dar este frecventă la bacterii. Ea se petrece cu adiționarea de hidrogen. Astfel, de la alanină se obține, în urma deaminării reductive, acid propionic:



Deaminarea intramoleculară are loc cu pierdere de amoniac, fără participarea apei, a oxigenului sau a hidrogenului. Astfel, din acid aspartic se formează acid fumaric.

Scanned with OKEN Scanner

Transaminarea. Între un α-aminoacid și α-cetoacid poate avea loc un transfer reversibil de grupare amino, cu transformarea α-cetoacidului în α-aminoacid. De exemplu, din alanină și acid α-cetoglutaric iau naștere acid glutamic și acid piruvic. Reacția este catalizată de enzima glutamatpiruvat transaminază (GPT).



Acid glutamic — Acid piruvic — Acid α-cetoglutaric — Alanină

Transferarea grupei NH_2 de la acid glutamic la acid oxalilacetic cu formare de acid aspartic și de acid α-cetoglutaric este catalizată de glutamatoxalilacetat transferază (GOT), o enzimă care este mult răspîndită în organismele animale. Marea majoritate a aminoacizilor participă la aceste reacții de deaminare.

Cetoacizii care participă frecvent la reacții de transaminare sînt acidul piruvic, oxalilacetic și α-cetoglutaric. Ultimii doi sînt participanți ai ciclului ATC. Dintre aminoacizii donori de grupe NH_2 sînt acidul glutamic, cu precădere pentru regnul animal, și acidul aspartic îndeosebi pentru plante. De asemenea, mai participă arginina, cisteina, leucina, metionina, tirozina, triptofanul și valina.

Gruparea prostetică a deaminazelor este piridoxalfosfatul, iar mecanismul este astăzi complet elucidat. Mecanismul intim este complex și are loc în două faze. În prima etapă aminoacidul cu piridoxalfosfatul formează o bază Schiff, care suferă o transpoziție urmată de o hidroliză și apoi rezultă cetoacidul corespunzător aminoacidului catabolizat și piridoxaminfosfat. În faza a doua, procesul este inversat, cu participarea unui alt cetoacil în condensare cu piridoxaminfosfat, dînd naștere în final la un nou aminoacid. Acest aminoacid împreună cu cetoacidul fazei întîi constituie produși de reacție. Succesiunea de reacții este redată în figura 10.28.

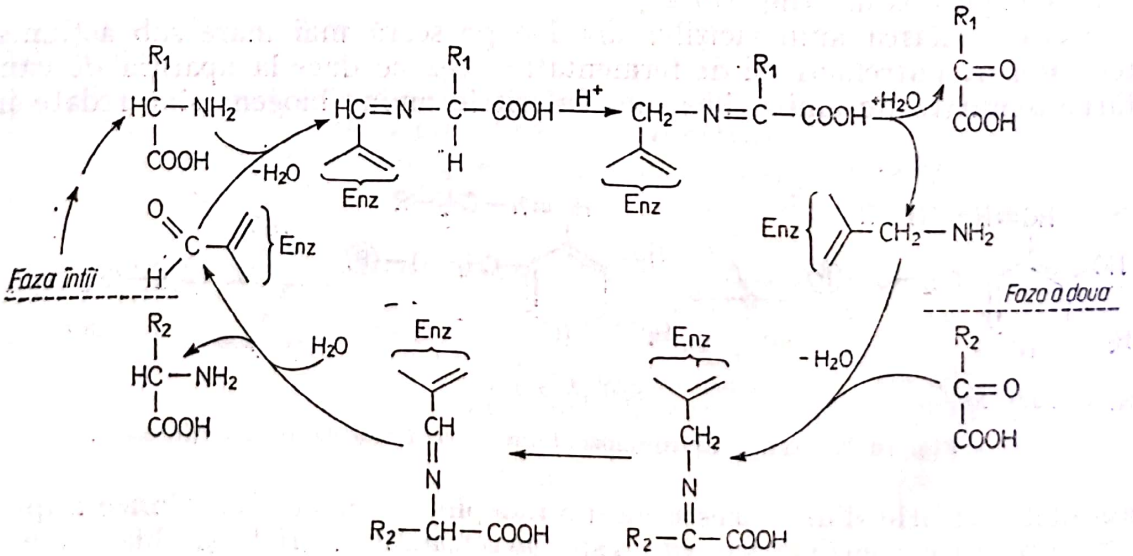


Fig. 10.28. Procesul de deaminare a unui aminoacid și de aminare a unui cetoacid.

Reacțiile de transaminare au loc în majoritatea țesuturilor animale, dar îndeosebi în ficat, în rinichi și în creier.

Importanța metabolică a transaminării. Procesul de transaminare deține un rol major în cadrul metabolismului aminoacizilor, atît în căile catabolice, cît și în cele anabolice.

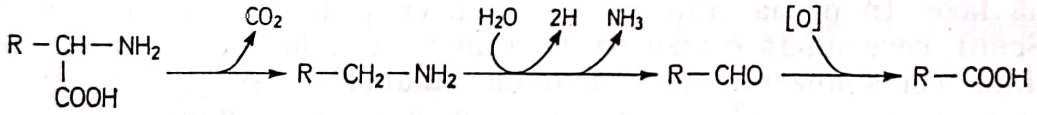
S-a demonstrat că în procesul transaminării participă un acid dicarboxilic, α-aminat sau α-cetonic: acidul glutamic (sau α-cetoglutaric), acidul aspartic (sau oxalilacetic). În țesuturile animale are loc un proces aspartotransaminazic, care este cuplat în mod obligatoriu cu sistemul glutamic-α-cetoglutaric:

Acid glutamic + Acid piruvic → Acid α-cetoglutaric + Alanină

Acid glutamic + Acid oxalilacetic → Acid α-cetoglutaric + Acid aspartic.

Transaminarea glutamat-aspartat predomină net în țesuturile animale și depinde de concentrația enzimei corespunzătoare, iar transaminarea glutamat-alanină este foarte activă. Transaminarea asigură deci un rol central acidului glutamic în transformările metabolice ale aminoacizilor. Mai mult, azotul amoniacal al tuturor aminoacizilor trece în cantități mari în gruparea amidică a glutaminei, grupare care apoi constituie principala sursă directă de amoniac a organismului animal. Din acidul glutamic, amoniacul este eliberat în ficat prin deaminare cu NAD^+. Transaminarea stabilește și o legătură între metabolismul glucidelor și al protidelor, întrucît cetoacizii ocupă o poziție cheie în cadrul acestor transformări metabolice. Transaminarea este un proces general de degradare și de sinteză a aminoacizilor.

Decarboxilarea. Așa cum s-a arătat la reacțiile aminoacizilor date de gruparea carboxil prin decarboxilare se obțin amine biogene, iar acestea pot fi transformate mai departe în acizi carboxilici.



În acest fel dintr-un aminoacid C_n se obține un acid carboxilic C_{n-1}. Enzimele participante la acest proces sînt aminoaciddecarboxilazele, care conțin piridoxalfosfat. Eliminarea de CO_2 are loc din baza Schiff a aminoacidului, cu piridoxină (fig. 10.29).

Decarboxilarea aminoacizilor are loc pe scară mai mare sub acțiunea bacteriilor de putrefacție și de fermentație, ceea ce duce la apariția de cantități însemnate de amine biogene. Diferitele amine biogene sînt redate în

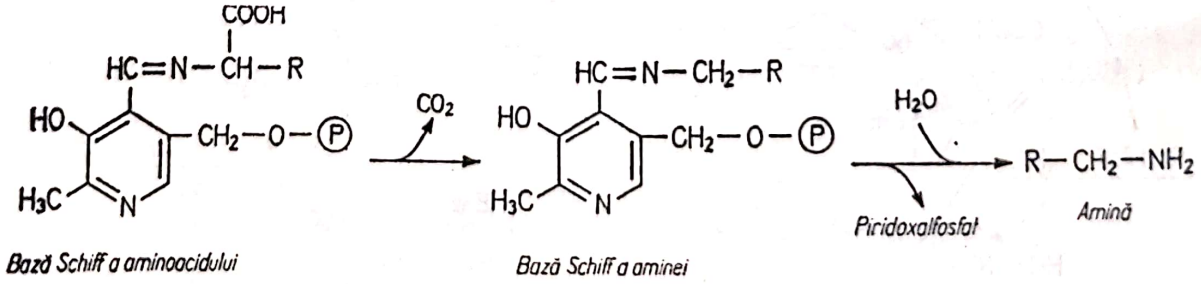
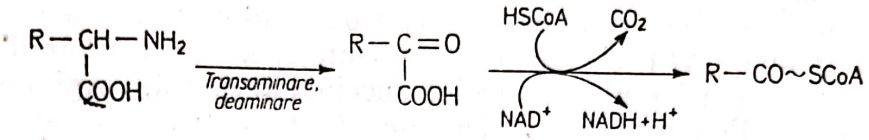


Fig. 10.29. Activarea aminoacidului în vederea decarboxilării.

capitolul 4. Unele dintre aceste amine îndeplinesc funcții biochimice importante (în procese enzimatice, în creșterea tensiunii arteriale și chiar în biosinteza proteidelor, întrucît unele se află în ribozomi).

Scanned with OKEN Scanner

Destinația cetoacizilor și a acizilor carboxilici rezultați în deaminări și transaminări. Cetoacizii rezultați în procesele de deaminare oxidativă și de transaminare pot lua parte la procesele de decarboxilare oxidativă:



Acidul carboxilic activat participă în continuare la degradare pe calea β-oxidării rezultînd $CH_3—CO \sim SCo, A$, care intră în ciclul ATC, ceea ce duce în final la CO_2 și H_2O. Aminoacizii capabili de a da naștere la cetoacizi, respectiv la corpi cetonici, se numesc *aminoacizi cetogeni*. Așa sînt, de exemplu, fenilalanina, leucina și tirozina.

Alte posibilități de scindare a legăturii C—C din aminoacizi sînt cele cu formare de diferite fragmente, cum sînt resturile $—CH_2—OH$, —CHO sau altele. În acest sens funcționează serina și acidul aspartic, iar glicocolul participă la biosinteza porfirinelor și a bazelor nucleice.

Unii aminoacizi se pot transforma în hormoni sau în alți compuși cu funcții biochimice. Astfel, fenilalanina și tirozina sînt precursori ai noradrenalinei și adrenalinei, iar acești hormoni se pot transforma în pigmenți melaninici. Triptofanul poate da naștere la nicotinamidă și apoi la dehidrogenaze nicotinamidnucleotidice. Unii aminoacizi, îndeosebi cei care dau naștere la α-cetoacizi cu C_3 sau C_4 pot participa la gluconeogeneză, de aceea ei se numesc aminoacizi glucoformatori.

10.6.2.2. DESTINAȚIA GRUPĂRII NH_2

Așa cum s-a arătat, gruparea amină a aminoacizilor poate fi transferată în reacții de transaminare sau poate fi eliberată sub formă de amoniac sau transferată altor compuși, cum sînt compușii amidici glutamina și ureea. Este știut că amoniacul liber este toxic pentru organismul animal. Pentru anihilarea lui, organismele animale dispun de diferite posibilități, și anume:

— animalele superioare, peștii și amfibiile transformă amoniacul în uree, care se elimină din organism, și în glutamină, care este păstrată ca rezervă de azot amidic sau îl pot anihila ca săruri de amoniu;

— păsările, reptilele și nevertebratele terestre transformă amoniacul în acid uric.

Amoniacul din organismele animale poate fi deci eliminat sub formă de săruri sau ca atare *(amoniogeneză)* sau transformat în uree *(ureogeneză)* sau legat în glutamină *(glutaminogeneză)*. De asemenea, gruparea NH_2 din aminoacizi este utilizată în diferite sinteze, ca cele de aminoglucide și baze nucleice.

Amoniogeneza. În urma catabolizării aminoacizilor apare în sîngele arterial o cantitate de 0,29 mg% (1—2 mg la litru) amoniac, care se formează în țesutul renal și se elimină prin urină. În sîngele aferent concentrația în amoniac este de 10 ori mai mare. Această amoniogeneză constituie o funcție de apărare antiacidă a rinichiului. Așa se explică faptul că în cazul cînd în organism apare o cantitate mare de acizi carboxilici liberi, amoniacul îi neutralizează, transformîndu-i în săruri de amoniu. În lipsa amoniacului, acizii liberi consumă ioni de Na^+ și K^+. În prezența amoniacului organismul poate economisi acești ioni și să mențină rezerva alcalină la valoarea normală.

Scanned with OKEN Scanner

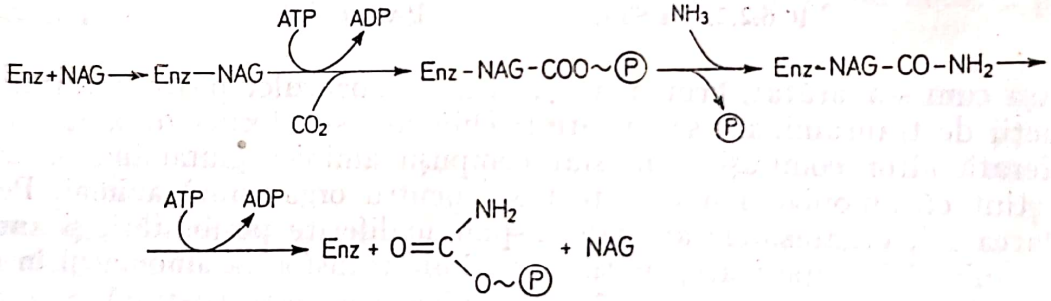
Ureogeneza. Formarea ureei se realizează în ficat, printr-o serie de reacții care constituie un ciclu, cunoscut sub numele de *ciclul ureogenetic* sau *ciclul ornitinei*. Acest ciclu reprezintă una din cele mai importante căi de detoxifiere, de care dispune organismul animal. În biosinteza ureei participă amoniacul, dioxidul de carbon, aminoacizi (ornitină, acid glutamic, acid aspartic, citrulină și arginină), ATP și numeroase enzime specifice (carbamilfosfatsintetază, ornitintranscarbamilază, argininsuccinatsintetază, argininsuccinatliază și arginază). Procesul este endergonic, fapt pentru care este necesară prezența ATP.

În prima fază a procesului ureogenetic este captat CO_2 și NH_3, în prezență de ATP și sub acțiunea carbamilfosfatsintetazei, cu consumarea a două molecule de ATP și formarea unui compus macroergic, numit carbamilfosfat, după următoarea reacție:

$$NH_3 + CO_2 + 2\,ATP \underset{\text{Carbamilfosfatsintetază}}{\overset{\text{N-acetil-glutamat, } Mg^{2+}}{\rightleftharpoons}} O=C\begin{matrix}NH_2\\ O\sim\textcircled{P}\end{matrix} + 2\,ADP + H_3PO_4$$

Carbamilfosfat

Enzimele implicate în proces sînt activate de prezența acidului N-acetilglutamic (NAG), biotină și ioni de Mg^{2+}. Sistemul enzimatic este capabil de fixare a amoniacului chiar în cantități extrem de mici. Din cauza puternicei variații de energie, reacția de formare a carbamilfosfatului este practic ireversibilă și are loc în mai multe etape:



În faza următoare are loc o reacție de transfer a grupării carbamil pe ornitină, în prezența ornitincarbamiltransferazei, cu formare de citrulină. Aceasta din urmă se unește cu acidul aspartic, care furnizează cea de-a doua grupare amino. Se formează intermediar acid argininsuccinic, prin a cărei scindare hidrolitică rezultă acid fumaric și arginină. În continuare, arginina este scindată hidrolitic sub acțiunea unei enzime hepatice de scindare, în uree și ornitină, iar ornitina regenerează citrulina și începe un nou ciclu. Acidul fumaric rezultat este eliminat din ciclu și intră într-un ciclu secundar de regenerare a acidului aspartic. Ureea formată se elimină pe cale renală. Procesul ureogenetic este redat în figura 10.30.

În formarea ureei un atom de azot provine din amoniac, iar cel de-al doilea din acid aspartic. Totodată la formarea unei molecule de uree se consumă trei moli de ATP.

Ureogeneza este un proces strîns legat de respirația celulară. În lipsa oxigenului este împiedicată formarea ureei.

Regenerarea acidului aspartic consumat în ciclul ureogenetic se realizează printr-un proces ciclic, secundar celui ureogenetic și din ciclul ATC cu formare de acid malic. Ultimul este dehidrogenat la acid oxalilacetic, care, în

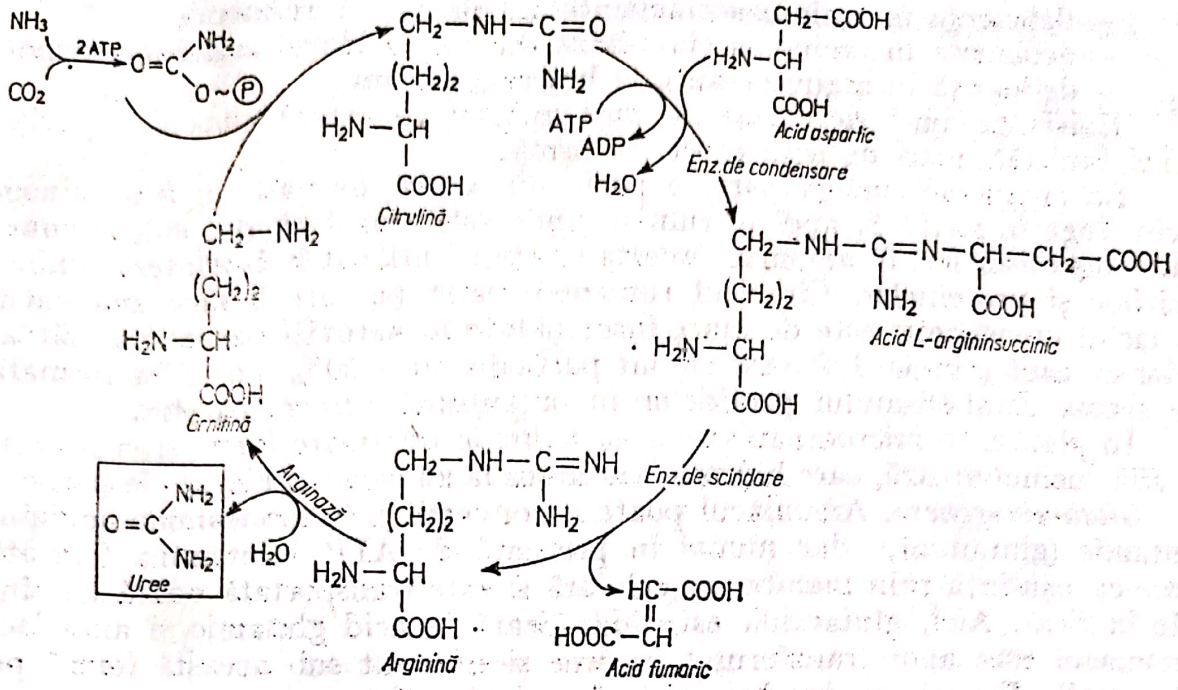


Fig. 10.30. Ciclul ureogenetic.

urma unui proces de transaminare, este transformat în acid aspartic, după cum rezultă din figura 10.31.

Așa cum rezultă din figura 10.31, transformarea acidului fumaric în acid aspartic are etape comune cu o porțiune din cicul ATC. Totodată, prin reacția de transaminare se realizează legătura cu metabolismul aminoacizilor.

Localizarea intracelulară a ciclului ureogenetic. Carbamilfosfatsintetaza și ornitintranscarbamilaza se găsesc extramitocondrial, argininsuccinat-

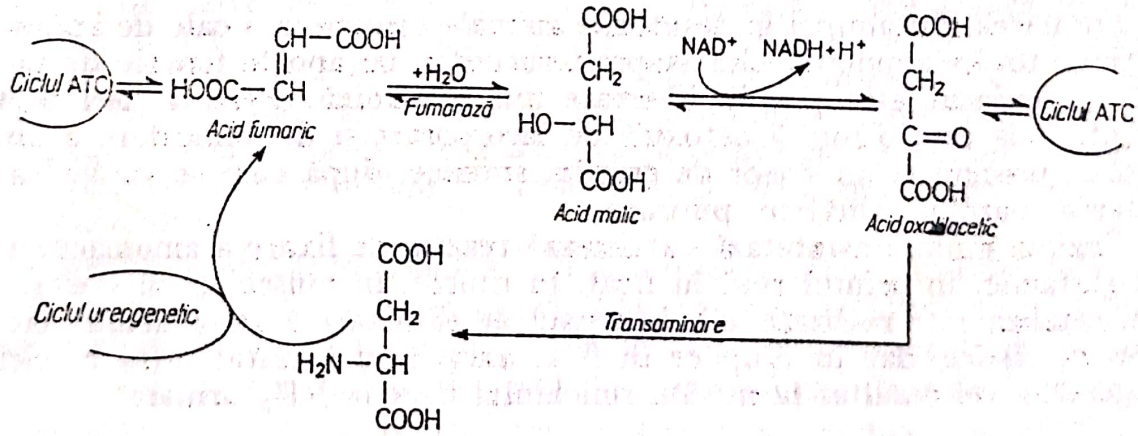


Fig. 10.31. Ciclul de reglare a acidului aspartic.

sintetaza și liaza în citoplasmă, iar arginaza în microzomi. În aceste condiții citrulina formată în mitocondrii trece în citoplasmă pentru a forma arginina, care în circuitul său difuzează în microzomi pentru a fi hidrolizată în uree și ornitină, ultima trecînd în mitocondrii.

Deficiențele enzimatice ale ciclului ureogenetic. Prin decelarea deficiențelor enzimelor implicate în ciclul ureogenetic a condus la descrierea unui bilanț biologic caracteristic:

— deficiența în ornitintransacarbamilază duce la hiperamoniemie și hiperglutaminurie;

Scanned with OKEN Scanner

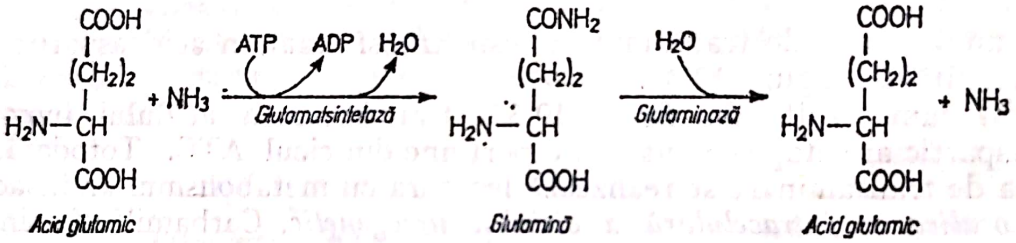
— deficiența în argininsuccinatsintetază duce la citrulinemie;
— deficiența în argininsuccinat-liază duce la acidurie arginin-succinică;
— deficiența în arginază duce la hiperargininemie.

Existența unei deficiențe în carbamilfosfatsintetază duce la apariția unei cantități mari de acid orotic în urină.

La animalele rumegătoare, o parte din ureea formată în ficat ajunge prin sînge în salivă și apoi în rumen, unde este transformată, sub acțiunea microorganismelor, în amoniac. Acesta este apoi utilizat în biosinteza aminoacizilor și proteinelor. Circuitul rumeno-hepatic pe care îl face amoniacul în ciclul ureogenetic este de mare însemnătate în aprovizionarea rumegătoarelor cu azot proteic. La acest circuit participă circa 50% din ureea formată pe seama catabolismului protidelor în organismul rumegătoarelor.

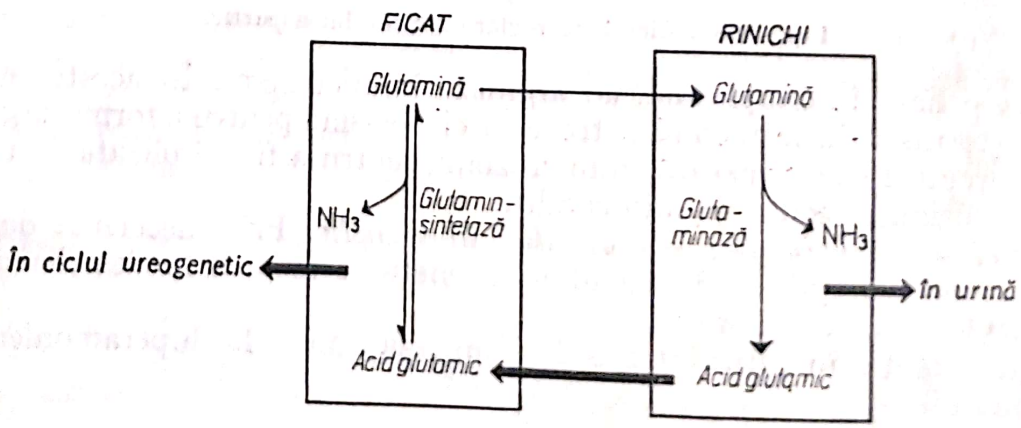
În plante, în microorganisme și la animale inferioare (pești și crustacei) se află enzima urează, care hidrolizează ureea la amoniac și dioxid de carbon.

Glutaminogeneza. Amoniacul poate fi convertit și în monoamida acidului glutamic (glutamină), dar numai în prezență de ATP. Glutamina formată trece cu ușurință prin membrana celulară și este transportată odată cu sîngele în ficat. Aici, glutamina este hidrolizată la acid glutamic și amoniac. Amoniacul este apoi transformat în uree și eliminat sub această formă pe cale renală. Reacția ce are loc poate fi redată astfel:



Formarea glutaminei în țesuturile animale constituie o cale de anihilare a acțiunii toxice a amoniacului asupra țesuturilor, iar apoi în funcție de necesități, amoniacul este pus în libertate din glutamină. Rezultă deci faptul că glutamina este o formă netoxică de încorporare și de vehiculare a amoniacului, precum și un donor de grupări aminice, după cum se va vedea la formarea bazelor nucleice purinice.

Enzima glutaminsintetază catalizează reacția de fixare a amoniacului la acid glutamic, în primul rînd în ficat, în rinichi, în mușchi și în creier. În ficat, cataliza este realizată atît în sensul de eliminare a amoniacului, cît și în cel de fixare, dar în timp ce în ficat amoniacul rezultat intră în ciclul ureogenetic, cel rezultat la nivelul rinichiului duce la NH_3 urinar:



Prin scindarea glutaminei la nivelul rinichilor, acidul glutamic își poate relua circuitul.

În plante, depozitarea amoniacului se realizează atît sub formă de glutamină, cît și sub formă de asparginā. Plantele nu elimină amoniac, ci îl reutilizează în întregime în biosinteza de aminoacizi și proteine.

Rolul îndeplinit de creatină și creatinină în utilizarea amoniacului. O altă parte din azotul amoniacului rezultat prin deaminări în organismul ani-

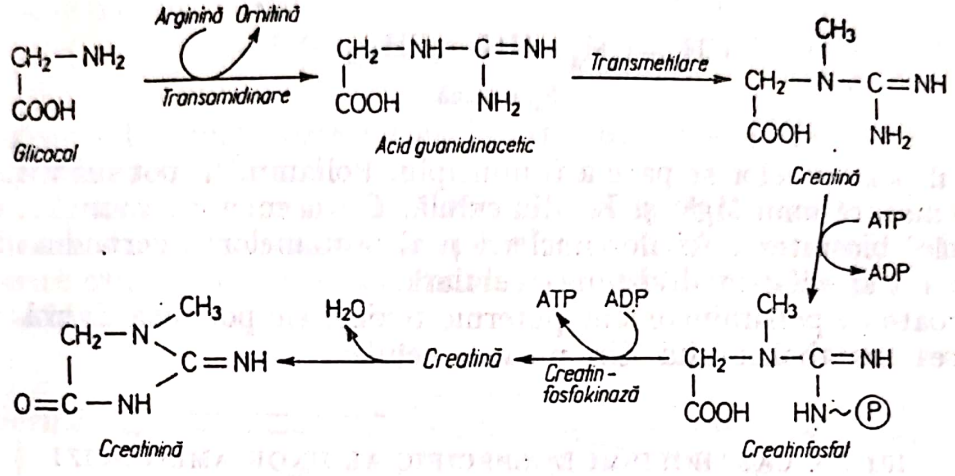


Fig. 10.32. Rolul îndeplinit de creatină și creatinină în utilizarea amoniacului.

mal este utilizat, sub formă de arginină (rezultată în ciclul ureogenetic) în formarea a trei compuși aminici, și anume: creatinfosfat, creatină și creatinină. Formarea celor trei compuși se realizează în mai multe etape. Mai întîi, în rinichi are loc transferul restului guanidinic de la arginină la molecula de glicocol, cu formarea acidului guanidinic. Acest din urmă compus este apoi metilat de către S-adenozil-metionină, în prezența unei transmetilaze, la creatină. Reacția are loc în ficat și în rinichi. Creatina este apoi fosforilată la creatinfosfat de către ATP, în prezența creatinfosfokinazei și a ionilor Mg^{2+}. Urmează apoi defosforilarea creatinfosfatului, cînd rezultă creatină și energie, iar creatina este anhidrificată la creatinină. Procesul de formare a acestor compuși și utilizarea argininei din ciclul ureogenetic este redat în figura 10.32.

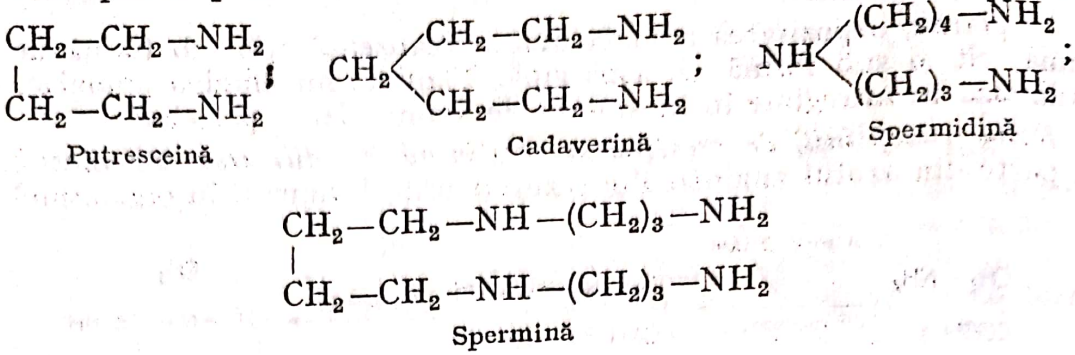
Creatinfosfatul se formează și se acumulează în mușchi în faza de repaus, iar transferul fosfatului și a energiei încorporate în legătură macroergică se realizează în decursul travaliului muscular. Creatinina formată este excretată prin urină, în concentrații de 0,1—0,2 g%. Această cantitate depinde de specia animală, fiind în general mai mică la bovine și mai mare la cabaline. Ea este dependentă de intensitatea metabolismului în mușchi și într-o oarecare măsură de cantitatea de proteine ingerate. În urina animalelor gestante și a celor tinere alături de creatinină se află și creatină, dar în cantități mici.

Eliminarea amoniacului la păsări și la reptile se face mai ales sub formă de acid uric. Formarea acestuia parcurge un proces complex, în care se formează hipoxantină. Aceasta este oxidată la acid uric. Procesul are loc în ficat și în rinichi.

Poliamine. La decarboxilarea aminoacizilor cu caracter bazic rezultă poliamine. Conținutul acestora este de ordinul p.p.m. și se află în celule în relație stoichiometrică cu cantitatea de ARN.

Scanned with OKEN Scanner

Principalele poliamine sînt:



Putresceină — Cadaverină — Spermidină

Spermină

Rolul poliaminelor se pare a fi multiplu. Poliaminele pot substitui într-o oarecare măsură ionii Mg^{2+} și K^+ din celulă. De asemenea, au un rol esențial în controlul biosintezei acizilor nucleici și al proteinelor. Spermidina îndeplinește un rol specific în diviziunea celulară.

Cu toate că poliaminele sînt puternic toxice, ele pot juca un rol esențial în reglarea metabolismului din nucleul celular.

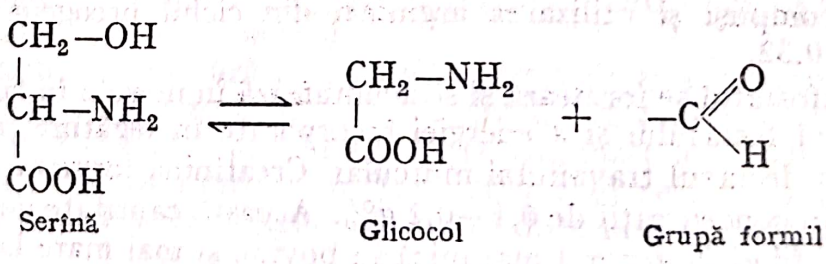
10.6.2.3. CATABOLISMUL SPECIFIC AL UNOR AMINOACIZI

Catabolismul aminoacizilor se realizează pe căile generale arătate, avînd însă și unele particularități specifice, legate de structura lor. Pentru ca unele procese catabolice să nu fie repetate, aminoacizii vor fi grupați pe baza unor relații metabolice apropiate ce există între ei.

Catabolismul glicocolului, serinei și treoninei. Între acești trei aminoacizi există o strînsă relație metabolică, întrucît din serină și treonină se formează glicocol:

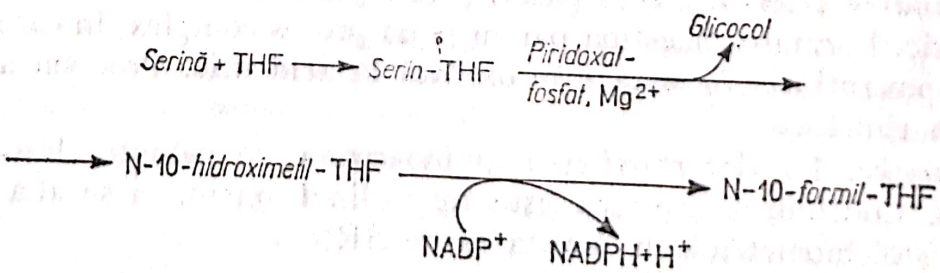
$$\text{Serină} \rightarrow \text{Glicocol} + C_1; \quad \text{Treonină} \rightarrow \text{Glicocol} + C_2$$

Formarea glicocolului din serină se realizează după următoarea relație de interconversie:



Serină — Glicocol — Grupă formil

Această convertire se realizează prin pierderea unei grupări formil de către serină și acceptarea ei de către acidul tetrahidrofolic, în prezența piridoxalfosfatului, după cum reiese din următoarele reacții:



Acidul N-10-formil-THF, care conține grupa formil activă ia parte la procese metabolice deosebit de importante, în primul rînd în biosinteza bazelor nucleice purinice.

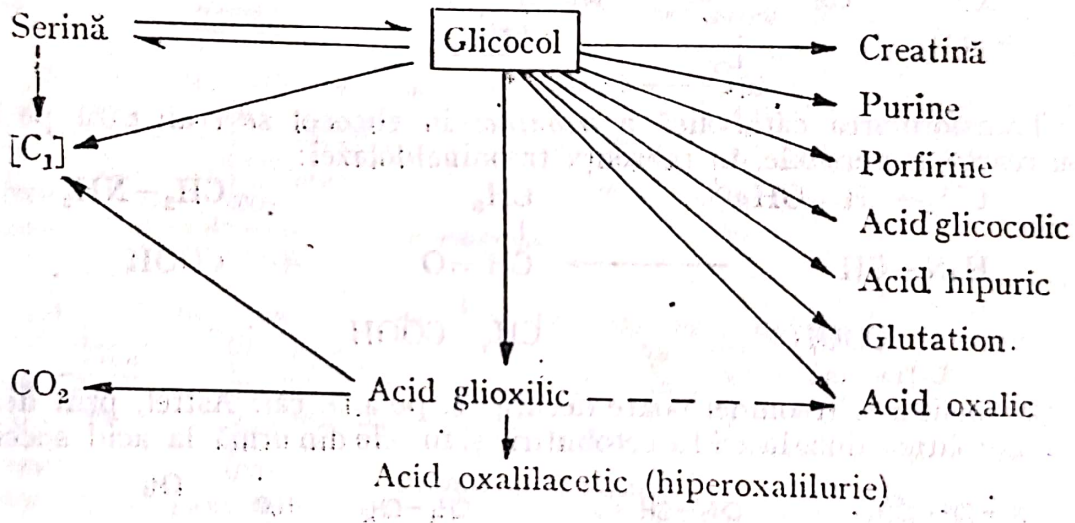
Trecerea serinei la glicocol se poate realiza în aceeași măsură prin intermediarii colamină, colină și betaină. Conversia serină ⇌ glicocol este reversibilă. Experiențele efectuate cu acid formic marcat și glicocol marcat au dus la serină marcată.

$$\underset{\text{Acid formic}}{H^{14}COOH} + \underset{\text{Glicocol}}{H_2N-CH_2-{}^{13}COOH} \rightarrow HO^{14}CH_2-\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}}-{}^{13}COOH$$

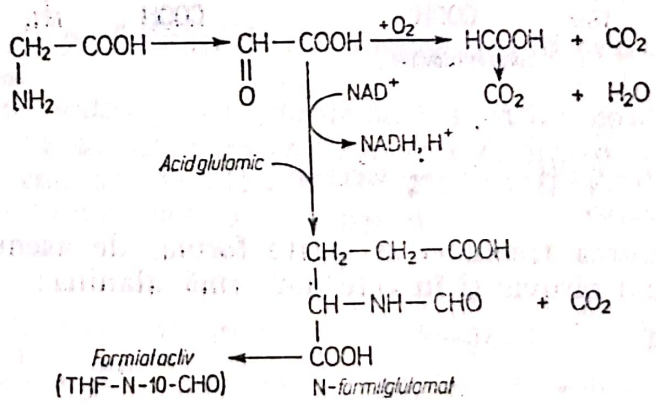
Serină

Glicocolul se mai poate forma în organismele animale din sarcosină, betaină și din treonină.

Destinația glicocolului. Glicocolul este un aminoacid glucoformator-fapt demonstrat prin utilizarea izotopilor marcați. Glicocolul este utilizat pe diferite căi, și anume: calea glioxilică, ciclul Shemin, calea aminoacetonei, calea serinei etc.



Pe calea glioxilică, glicocolul este deaminat oxidativ pînă la CO_2;

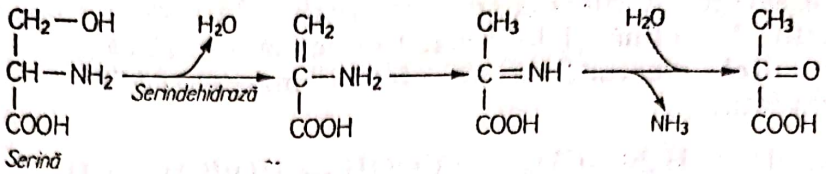


În ciclul Shemin, glicocolul se condensează cu acidul succinic în formarea acidului levulinic, precursor al compușilor porfirinici.

Pentru destinația glicocolului mai pot fi menționate: formarea acidului hipuric, acizilor glicocolici, creatinei, sarcosinei, betainei, purinelor.

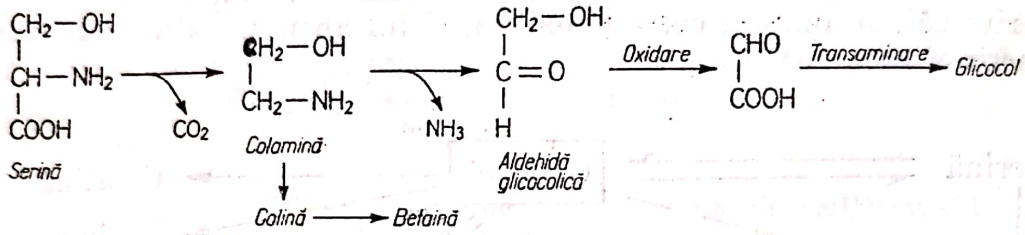
Scanned with OKEN Scanner

Transformarea *serinei* poate lua și o altă cale, care în final produce amoniac și acid piruvic. Acest proces de deaminare oxidativă constă în următoarele etape mai importante:

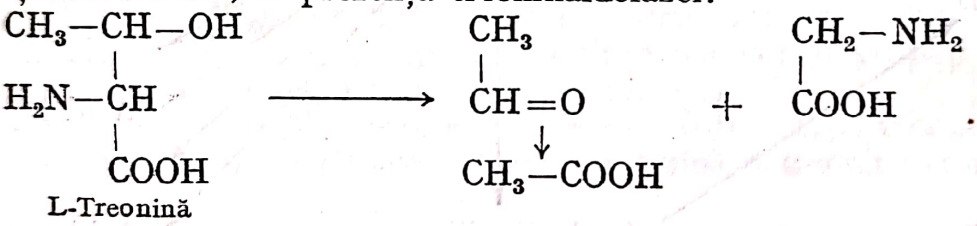


Acidul piruvic constituie un punct nodal al mai multor procese, și anume: poate fi aminat, în prezență de glutamat-piruvat-transaminază, la alanină sau poate lua parte, în funcție de necesități, la procesul de gluconeogeneză sau la transformările pe calea ciclului ATC.

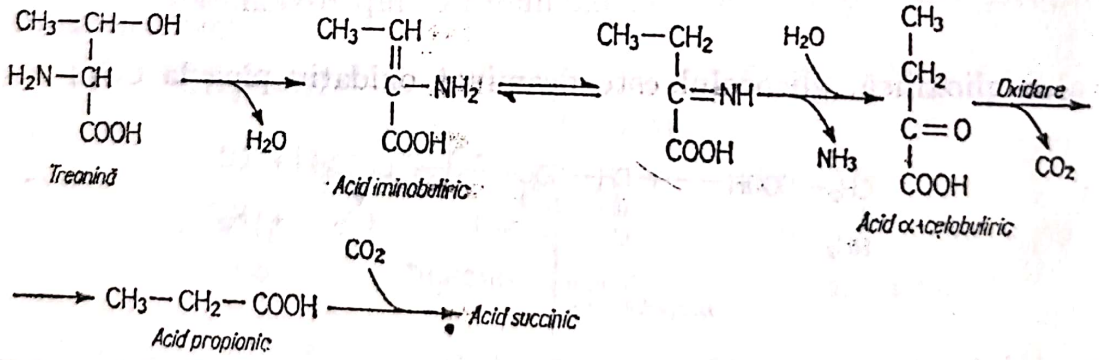
Serina poate participa la formarea colaminei, colinei și betainei, în urma unui proces de decarboxilare în prima etapă sau în urma unui proces de oxidare, să dea naștere la glicocol, după cum reiese din următoarele reacții:



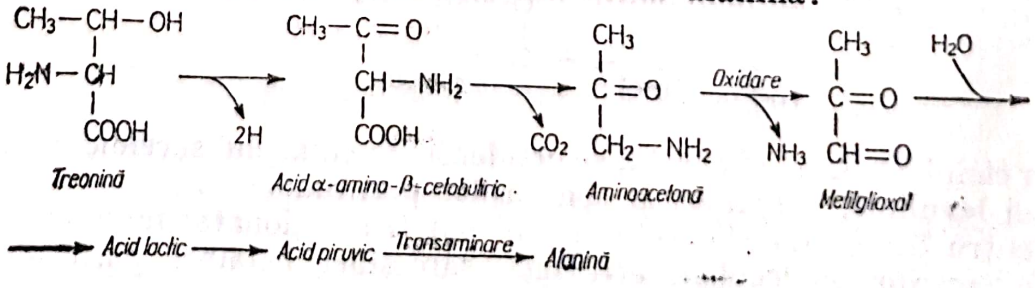
Transformarea catabolică a *treoninei* în glicocol se realizează pe baza unei reacții ireversibile, în prezența treoninaldolazei:



Catabolizarea treoninei poate decurge și pe alte căi. Astfel, prin deaminarea hidrolitică duce la acid α-cetobutiric și în cele din urmă la acid succinic:



Prin catabolizarea treoninei se poate forma, de asemenea, acid lactic la care apoi acid piruvic și în cele din urmă alanină:



Acidul lactic format poate lua calea de catabolizare după cum s-a arătat la procesul de glicoliză sau poate trece în acid piruvic și apoi prin transaminarea la alanină. Deoarece prin catabolizarea treoninei poate rezulta atît acid propionic, cît și acid lactic, care sînt precursori ai gluconeogenezei, se demonstrează faptul că treonina este un aminoacid glucoformator.

Catabolismul aminoacizilor cu catenă ramificată: valină, leucină și izoleucină. Acești aminoacizi fac parte din grupa celor esențiali. Catabolismul acestor aminoacizi în organismele animale începe prin procese de *deaminări oxidative*, urmate de *decarboxilări oxidative* a cetoacizilor rezultați și concomitent cu aceasta cuplarea cu CoA spre a forma acil-CoA. Etapele principale ale transformărilor acestor aminoacizi sînt redate în figura 10.33.

Valina este un aminoacid indispensabil, glucoformator și necetogenic, deoarece prin catabolizare rezultă în final metilmalonil-CoA, care poate trece apoi în acid propionic de la care se poate ajunge la glicogen sau succinil-CoA,

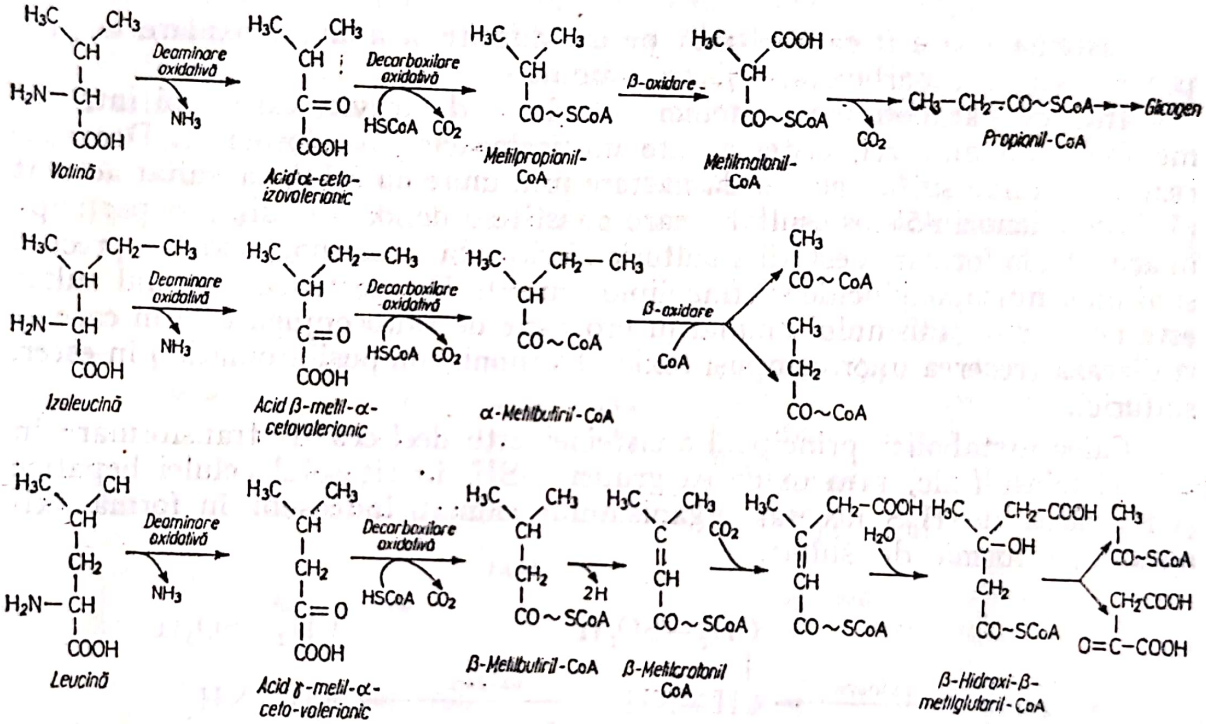
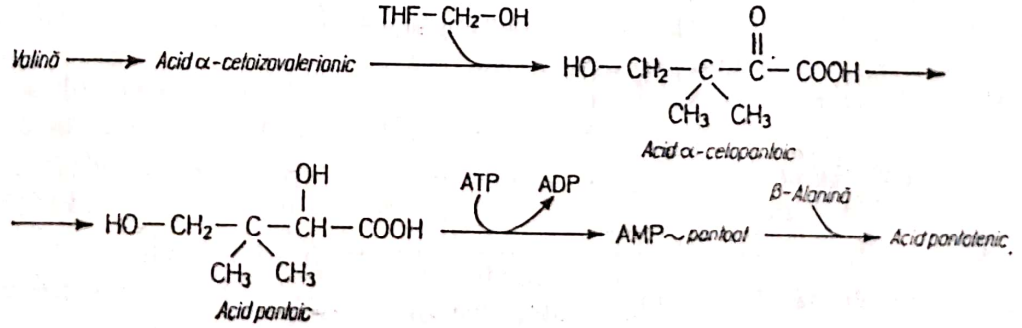


Fig. 10.33. Catabolismul valinei, izoleucinei și leucinei.

compus cu multiple posibilități de metabolizare și în primul rînd în formare de glucoză.

De asemenea, valina este precursorul acidului pantotenic și deci al coenzimei A. De la acidul α-cetoizovalerianic, printr-o reacție de transfer de grupare hidroximetil, de către THF—CH_2—OH, rezultă acidul α-cetopantoic, care este hidrogenat la acid pantoic:



Izoleucina este de asemenea un aminoacid glucoformator, în timp ce leucina este atît glucoformator, cît și cetogenetic, deoarece de la β-metil-butiril-CoA, urmînd calea ocolită cerută de β-oxidarea acizilor β-ramificați, rezultă acid acetilacetic și acetil-CoA. Intermediarul β-hidroxi-β-metil-glutaril-CoA, poate fi transformat prin hidrogenare în acid mevalonic, care constituie precursorul steridelor și al altor compuși izoprenoidici.

Leucinoza este o afecțiune ereditară ce constă în absența decarboxilării oxidative a acizilor α-cetonici proveniți de la transaminarea aminoacizilor cu catena ramificată: valină, leucină și izoleucină. Acești aminoacizi și acizii α-cetonici corespunzători se acumulează în sînge și urină.

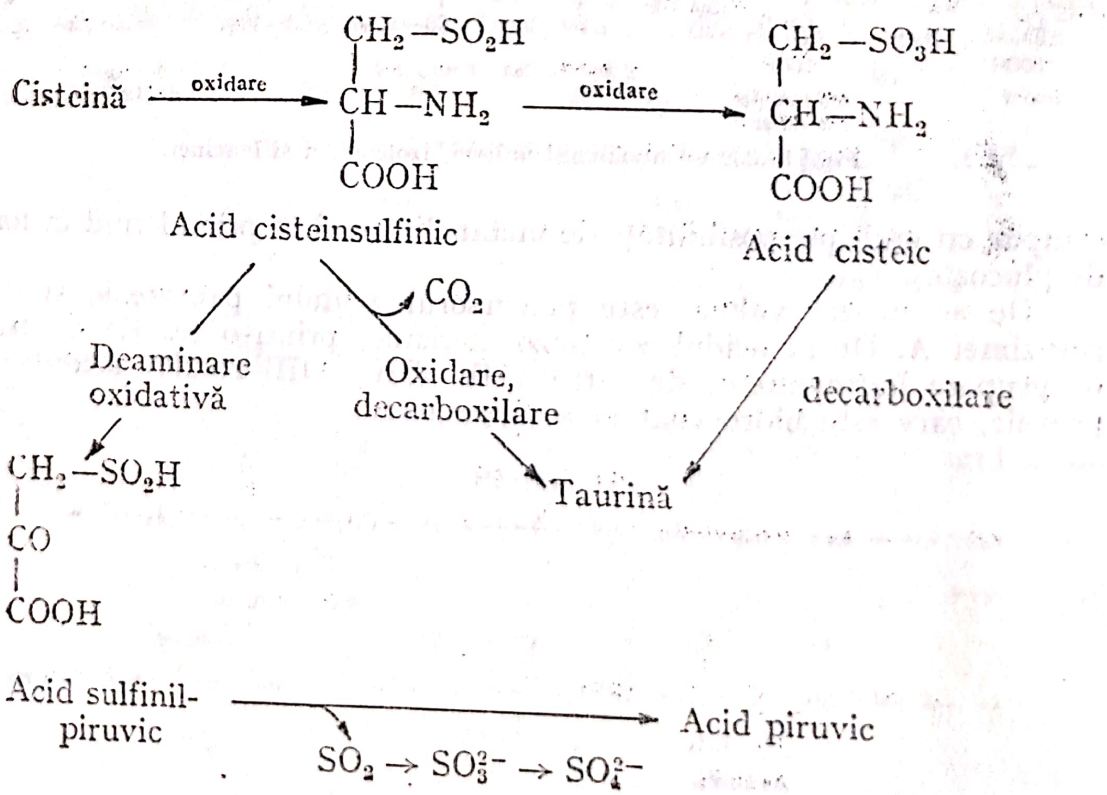
Catabolismul tioaminoacizilor. Între tioaminoacizi există o interrelație, care poate fi redată astfel:

Cistină ⇌ Cisteină ⟵ Metionină

Cisteina poate fi catabolizată pe căi diferite și anume: oxidare la gruparea tiolică, decarboxilare și transaminare.

Întrucît catabolizarea cisteinei duce la acid piruvic, care apoi intră în metabolismul glucozei, cisteina este un aminoacid glucoformator. Deoarece rezultă și anion sulfat, acesta dă naștere prin unire cu ATP, la sulfat activat (3'-fosfo-adenozin-5'-fosfosulfat), care constituie donor de sulfat și participă în acest fel la formarea esterilor sulfurici, îndeosebi ai aminoglucidelor, precum și ai unor mucopoliglucide și sfingolipide cu sulf. De asemenea, anionul sulfat este necesar organismului animal în procesele de sulfoconjugare, prin care se realizează trecerea unor compuși toxici (hormoni, compuși aromatici) în esteri sulfurici.

Calea metabolică principală a cisteinei este deci cea de transformare în acid cisteinsulfinic, prin oxidarea grupei —SH, în citosolul celulei hepatice și formarea de H_2S necesar organismului animal, îndeosebi în formă oxidată, sub formă de sulfat.



Cisteina poate fi catabolizată și pe altă cale. Astfel, prin oxidarea grupării tiol se formează acid cisteinic, prin decarboxilarea căruia ia naștere taurina. În urma decarboxilării directe a cisteinei se formează cisteamina, care intră în structura pantoteinei și a coenzimei A.

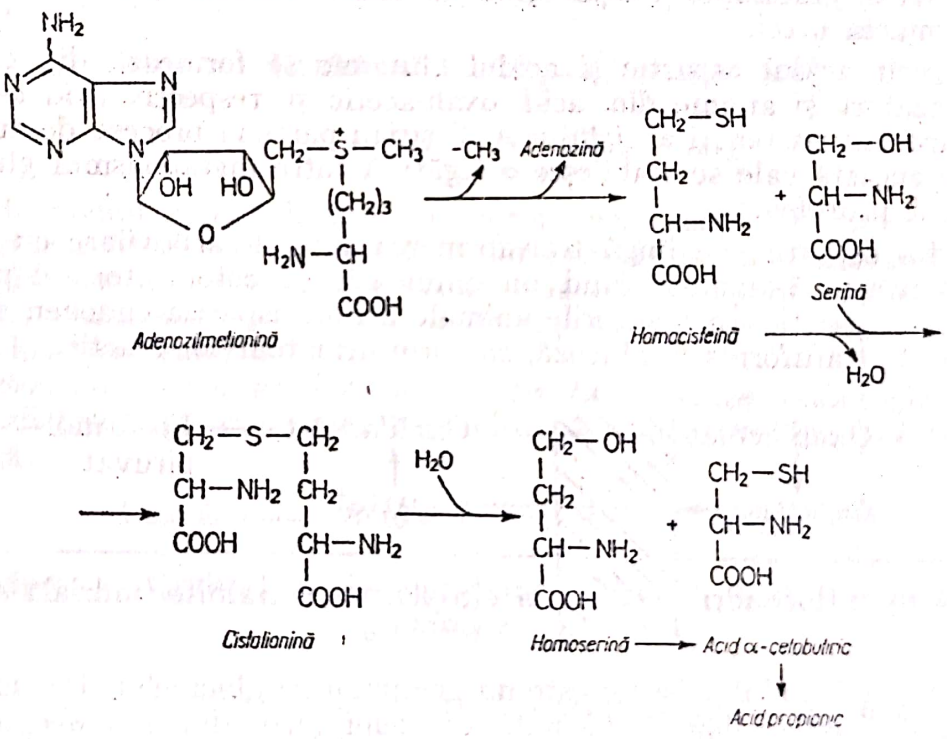
Cisteina participă la biosinteza glutationului și îndeplinește un rol important în formarea punților disulfurice din structura proteinelor.

Catabolismul metioninei este în strînsă legătură cu rolul său de agent de transmetilare, prin care cedează o grupă metil. În acest fel metionina participă în biosinteza creatinei, adrenalinei, colinei și beatinei. Pentru a putea participa metionina la procese de transmetilare, ea este activată sub formă de S-adenozilmetionină. S-Adenozilmetionina este capabilă să cedeze apoi gruparea metil unui acceptor și să formeze homocisteină. Reacția este catalizată de vitamina B_{12}, acizi pteroilglutamici și ioni Mg^{2+}.

Rolul metioninei în transmetilare explică acțiunea sa lipotropă și hepatoprotectoare și o acțiune indirectă favorabilă asupra eritropoezei. Acțiunea hepatoprotectoare a fost confirmată prin utilizarea unui regim lipsit de metionină și de colină care determină la șobolan apariția de leziuni hepatice realizînd tabloul cirozei de tip Laënnec. La adăugarea de metionină la rația alimentară aceste leziuni pot fi înlăturate.

Metionina este precursorul ciclului tiazolic al tiaminei.

Prin condensarea homocisteinei cu serină se formează cistationină:

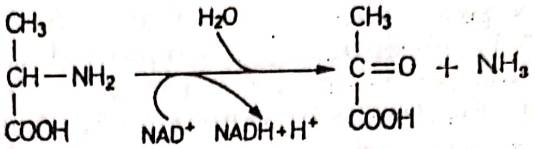


Cistationina se află în cantitate relativ mare în creierul primatelor. Prin hidroliza ei rezultă cisteină și homoserină. De la homoserină se ajunge apoi la acidul α-cetobutiric în urma unei reacții de deaminare și a unei transpoziții a dublei legături C=C care s-a format. Procesul are loc în toate organismele animale și decurge prin mai multe etape.

Catabolismul α-alaninei și β-alaninei. Acești aminoacizi sînt strîns legați de catabolismul acidului aspartic, după cum reiese din următoarea relație:

$$\alpha\text{-Alanină} + CO_2 \xrightarrow[\text{decarboxilază}]{\text{Aspartat-4-}} \text{Acid aspartic} \xleftarrow[\text{decarboxilază}]{\text{Aspartat-1-}} \beta\text{-Alanină} + CO_2$$

α-Alanina servește ca agent de transaminare a cetoacizilor și poate fi deaminată oxidativ la acid piruvic.



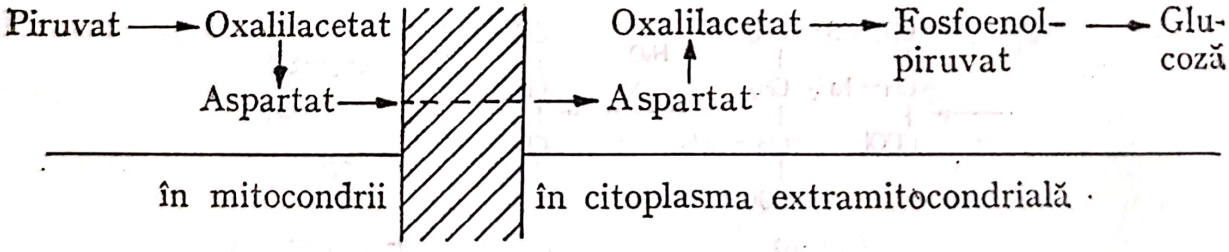
Acidul piruvic rezultat servește la formarea glucozei, fapt pentru care α-alanina este un aminoacid glucoformator. Totodată, α-alanina însăși participă la aminarea sau transaminarea acidului piruvic. De asemenea, un rest de α-alanină se află în cazul majorității aminoacizilor ciclici, iar ca atare este un participant frecvent în structura proteinelor.

β-Alanina este un constituent doar al cîtorva peptide și CoA. Prin decarboxilare se formează etilamina.

Catabolismul aminoacizilor cu caracter acid; acidul aspartic și acidul glutamic. În cadrul metabolismului protidelor acești doi aminoacizi ocupă o poziție însemnată, deși fac parte din categoria aminoacizilor neesențiali. Ei se află în mod obișnuit în stare liberă în organism. De asemenea, acidul glutamic participă la structura glutationului și a acizilor pteroilglutamici. Sub formă de glutamină și asparagină participă în metabolismul amoniacului și în formarea ureei.

Întrucît acidul aspartic și acidul glutamic se formează din cetoacizii corespunzători și anume din acid oxalilacetic și respectiv acid α-cetoglutaric, care sînt parteneri ai ciclului ATC și iau parte la procese de transaminare, pe această cale se stabilește o legătură între metabolismul glucidelor, lipidelor și protidelor.

Acidul aspartic, pe lîngă transformarea prin decarboxilare cu formare de α-alanină și β-alanină, fiind un aminoacid glucoformator, el participă și la diferite reacții. În țesuturile animale acidul aspartic endogen sau exogen se poate transforma în glucoză, conform următoarelor reacții:



În acest fel acidul aspartic este un precursor al glucidelor. De asemenea, acidul aspartic este utilizat în biosinteza bazelor pirimidinice și deci a nucleozidelor și nucleotidelor pirimidinice, precum și în ciclul ureogenetic, în formarea ureei. De asemenea, prin acetilare se formează acidul N-acetilaspartic, care se află în organismele animale (ficat, rinichi, mușchi și urină).

Acidul glutamic se află totdeauna în țesuturile animale, atît liber cît și ca glutamină. El ia parte la fixarea amoniacului, la reacții de aminare și transaminare, dar este și precursorul unor compuși de mare însemnătate pentru organism, îndeosebi în metabolismul celulei nervoase. Astfel, din acidul glutamic se formează, în urma unei reacții de decarboxilare, în prezența glutamatdecarboxilazei, acidul γ-aminobutiric (GABA), substanță cu rol mediator al transmiterii influxului nervos (fig. 10.34).

Scanned with OKEN Scanner

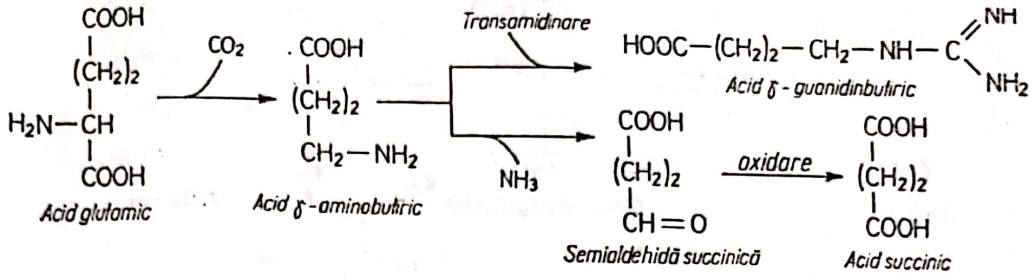


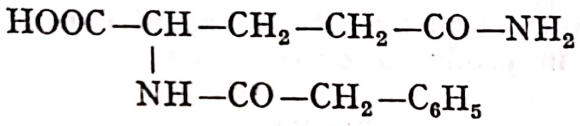
Fig. 10.34. Catabolizarea acidului glutamic la acid succinic

Prin reacția de transaminare și deaminare oxidativă — aminare reductivă, acidul glutamic poate amina acidul oxalilacetic în acid aspartic și să se transforme, în cele din urmă, după reacția globală:

$$\text{glutamat} + O_2 \rightarrow \text{aspartat} + CO_2 + H_2O$$

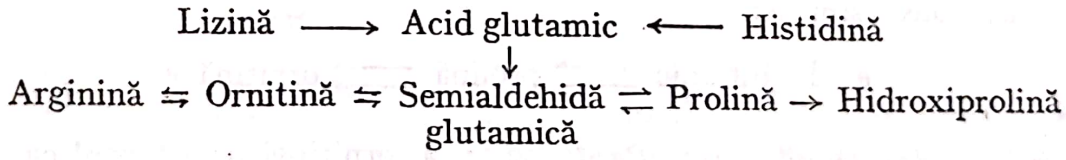
$$\text{aspartat} + \text{acetil-CoA} + O_2 \rightarrow \text{glutamat} + CO_2 + H_2O$$

Glutamina poate fixa, la om și animale, glicocol în reacții de detoxifiere. De asemenea, acidul fenilacetic este excretat în urină sub formă de fenilacetilglutamină:



De la acidul γ-aminobutiric, în urma unei reacții de transamidinare, se ajunge la acidul γ-guanidinbutiric, iar prin deaminare oxidativă la acid succinic. În acest fel prin acidul succinic se face legătura cu ciclul ATC. Pe de altă parte, acidul succinic poate fi utilizat și în biosinteza ciclului porfirinic și deci a hemoproteidelor.

Catabolismul aminoacizilor cu caracter bazic. Între acidul glutamic și aminoacizii bazici și cei cu structură pirolică există următoarea interrelație catabolică:



Dintre acești aminoacizi, doar ornitina nu participă ca atare la structura proteinelor, ci numai sub formă de arginină, care prin hidroliză acidă dă naștere la uree și ornitină. Așa cum s-a arătat la ciclul ureogenetic, ornitina se unește cu carbamilfosfat și formează citrulină, de unde apoi poate fi regenerată. Lizina este un aminoacid esențial sau facultativ esențial, îndeosebi pentru animalele tinere a căror creștere este stimulată.

Catabolizarea ornitinei se realizează prin transformarea ei în acid glutamic, pe de o parte, și în prolină și în hidroxiprolină, pe de altă parte. Astfel, prin transaminarea ornitinei cu participarea grupei aminice din poziția δ ia naștere semialdehida acidului glutamic, de la care apoi se formează acidul glutamic. Semialdehida glutamică se poate cicliza la prolină, după cum rezultă din figura 10.35.

Scanned with OKEN Scanner

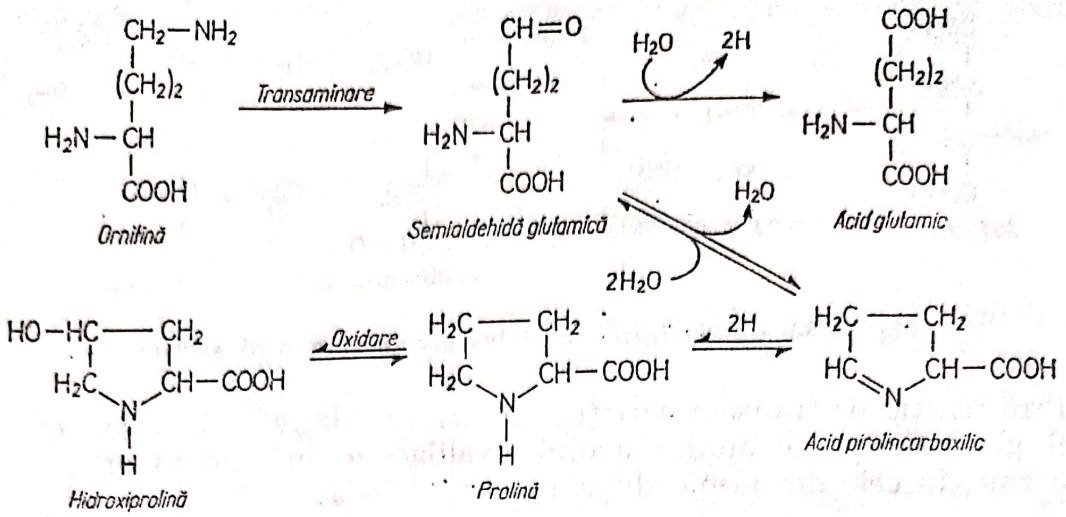
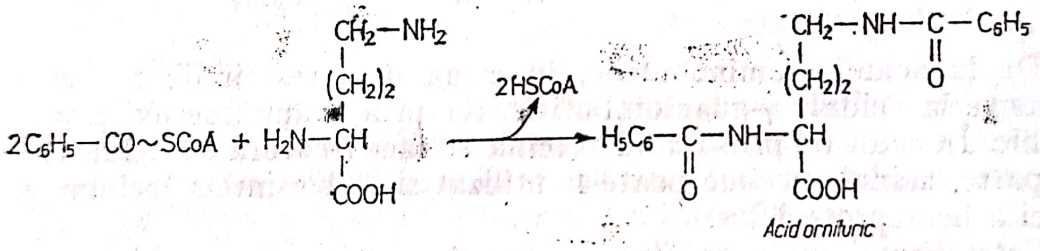


Fig. 10.35. Catabolizarea ornitinei.

Transformarea prolinei în hidroxiprolină se realizează în mod direct, de către oxigenază, și probabil exclusiv la nivelul prolinei deja combinate sub formă de prolil-tARN sau de prolil-polipeptidă. Reacția inversă n-a fost încă semnalată în organismul animal. Hidroxiprolina este catabolizată la acid hidroxiglutamic, iar acesta este transaminat la acid cetohidroxiglutaric, care prin scindare în prezența unei aldolaze trece în acid piruvic și acid glioxalic.

Pentru păsări, ornitina este un agent detoxifiant formînd acidul ornituric, prezent în produsele de eliminare.



Reacțiile procesului de catabolizare a ornitinei sînt reversibile, astfel că hidroxiprolina și prolina sînt catabolizate cu formare de acid glutamic realizînd interconversiunea:

$$\text{acid glutamic} \rightleftharpoons \text{prolină} \rightleftharpoons \text{ornitină}$$

Catabolismul lizinei se deosebește de cel al ornitinei prin faptul că lizina nu participă la reacții de transaminare și nici nu este convertită în alți aminoacizi. Procesul de catabolizare începe prin deaminarea oxidativă la gruparea aminică din poziția α. Se formează mai întîi acidul α-ceto-ε-amino-caproic, apoi reacția parcurge un șir de intermediari dintre care mai importanți sînt acidul pipecolic și aminoadipic. Ultimul trece în acid glutaric, după cum este redat în figura 10.36.

Întrucît lizina este un aminoacid esențial, care se află în majoritatea proteinelor globulare (cazeină, histone, protamine) animale și vegetale, aprecierea valorii biologice a proteinelor alimentare se face după conținutul lor în lizină.

Lizina este deaminată sub acțiunea bacteriilor de putrefacție cu formarea cadaverinei.

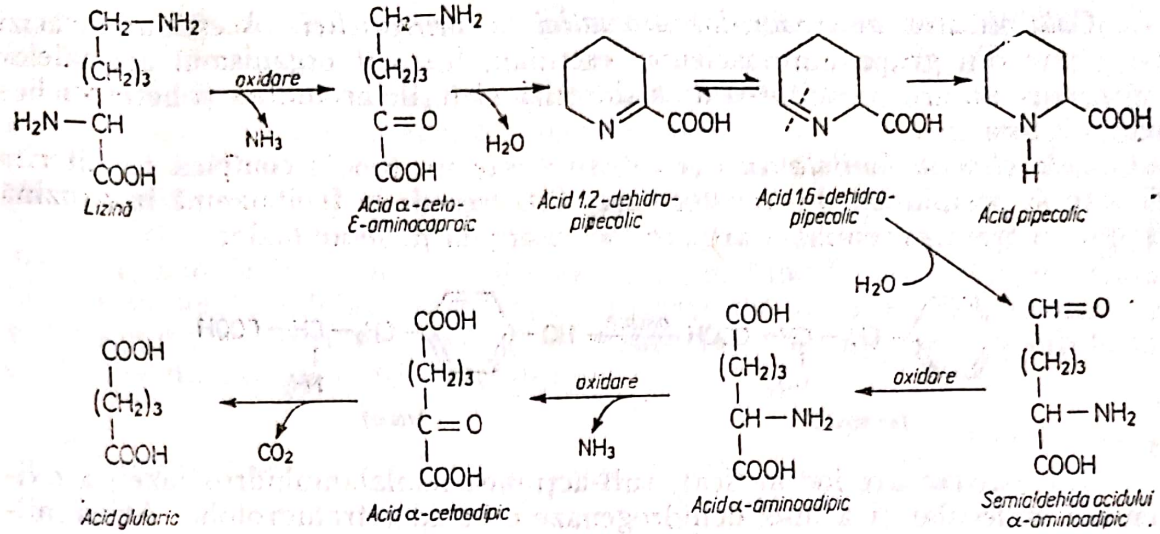
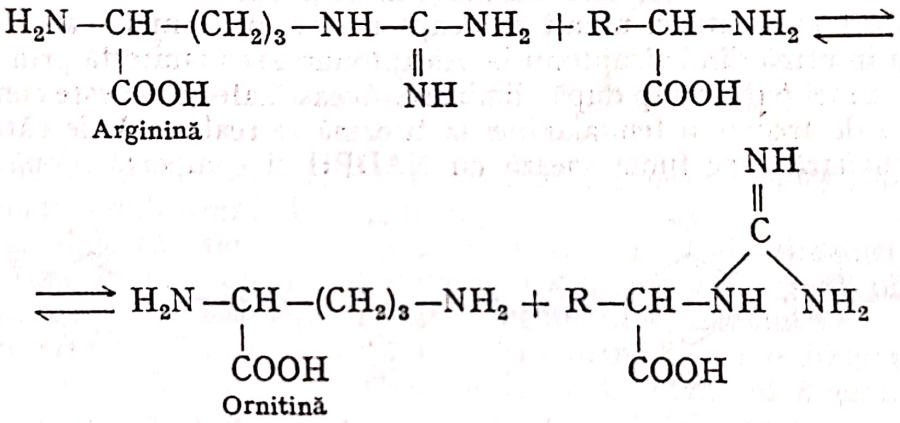


Fig. 10.36. Catabolizarea lizinei.

Catabolismul argininei constă în esență în capacitatea ei de a transfera un rest amidinic și deci participă în reacții de transamidinare.



Catabolismul prolinei și hidroxiprolinei. Acești aminoacizi sînt glucoformatori, iar catabolismul lor este dominat de interconversia: acid glutamic⇌ ⇌prolină⇌ornitină. Ca intermediar cheie este semialdehida glutamică, de la care prin oxidare se ajunge la acid glutamic, iar prin transaminare la ornitină.

Hidroxiprolina este catabolizată în țesuturile animale pînă la acid piruvic și acid glioxilic, conform figurii 10.37.

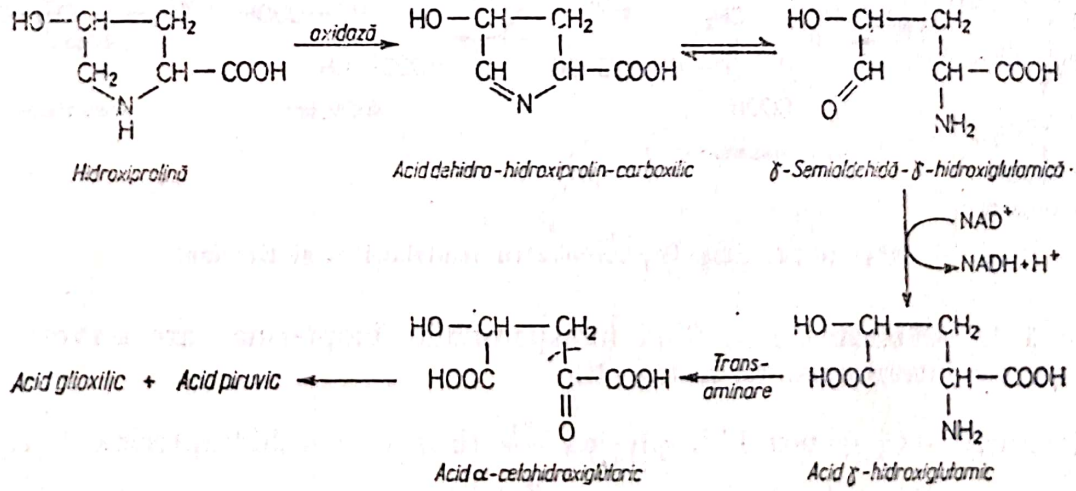
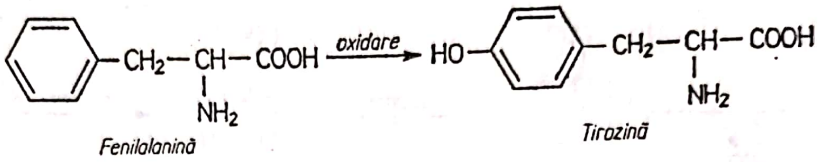


Fig. 10.37. Catabolizarea hidroxiprolinei.

Scanned with OKEN Scanner

Catabolizarea aminoacizilor aromatici și heterociclici. Acești aminoacizi fac parte din grupa aminoacizilor esențiali, întrucît organismul animalelor superioare nu are capacitatea de a sintetiza ciclurile aromatice și heterociclice ale acestora.

Catabolismul fenilalaninei și tirozinei este un proces complex cu diferite direcții și posibilități de transformare. Trecerea de la fenilalanină la tirozină este o reacție ireversibilă, care are loc în organismele animale:



Hidroxilarea are loc în ficat, sub acțiunea fenilalaninhidroxilazei, a oxigenului molecular și a unei dehidrogenaze cu acid tetrahidrofolic. Atît fenilalanina, cît și tirozina sînt precursori ai hormonilor medulosuprarenali (noradrenalină și adrenalină), precum și ai hormonilor tiroidieni ioduraţi.

Totodată, tirozina este precursorul pigmenților melaninici. Etapele principale ale catabolizării fenilalaninei și tirozinei sînt redate în figura 10.38.

Acidul homogentizic, numit și alcapton este un compus care se elimină în parte prin urină dînd alcaptonurie. Alcaptonuria se manifestă prin colorarea în brun a urinei puțin timp după eliminare. Această afecțiune este congenitală.

Etapa de trecere a fenilalaninei la tirozină se realizează de către fenilalanin-hidroxilază care funcționează cu NADPH și comportă două proteine

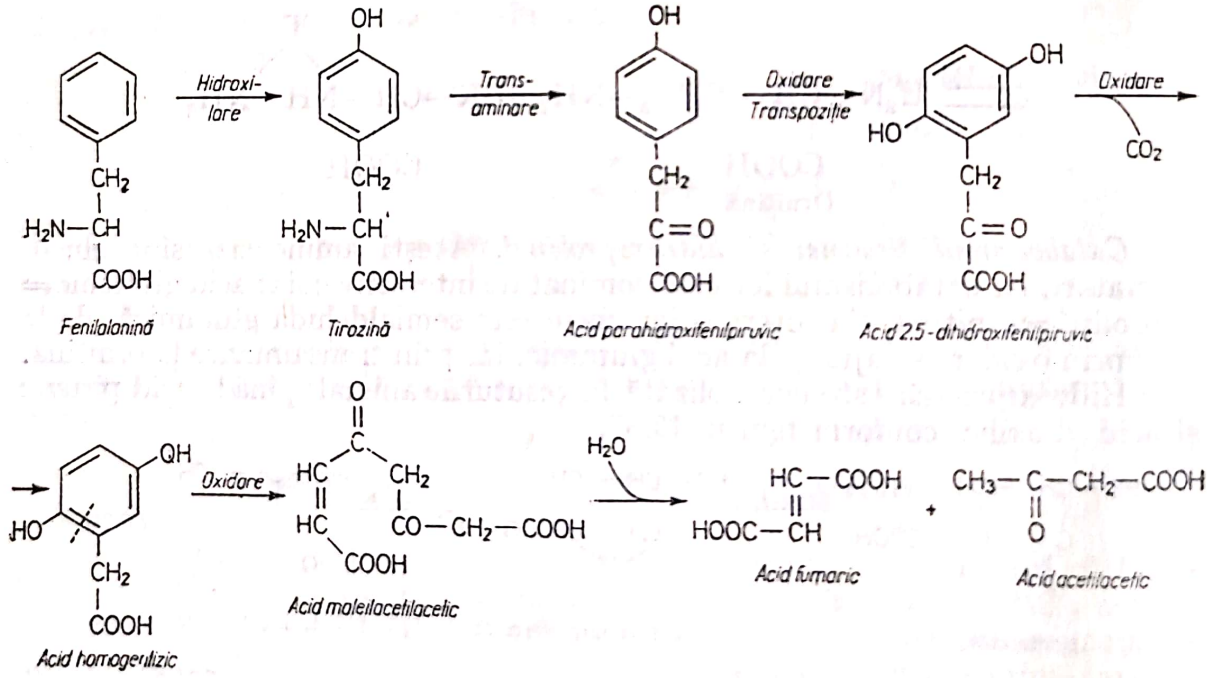


Fig. 10.38. Etapele catabolizării fenilalaninei și tirozinei.

(enzimă E_1 și enzimă E_2), fiind indispensabilă biopterina care servește ca transportor intermediar de hidrogen:

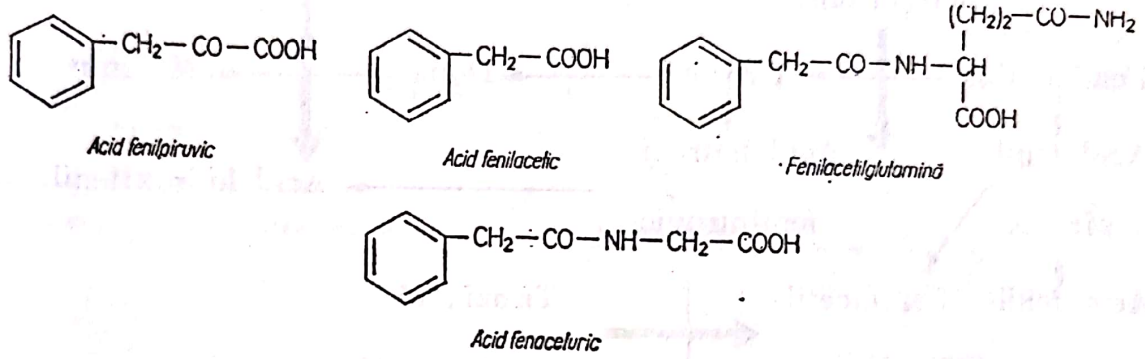
$$\text{fenilalanină} + O_2 + \text{tetrahidropterină} \xrightarrow{E_1} \text{tirozină} + \text{dihidropterină} + H_2O;$$

$$\text{dihidropterină} + \text{NADPH}, H^+ \xrightarrow{E_2} \text{tetrahidropterină} + \text{NADP}^+$$

În oligofrenia fenilpiruvică, deficiența enzimatică este localizată la nivelul enzimei E_1.

Degradarea acidului homogentizic în etapele următoare duce în cele din urmă la acid fumaric și acid acetilacetic. Acidul fumaric este un partener al ciclului ATC, iar acidul acetilacetic este un corp cetonic. Atît fenilalanina, cît și tirozina sînt deci aminoacizi cetogeni și glucoformatori.

O altă cantitate de fenilalanină, la om și la primate, este transaminată direct în acid fenilpiruvic și fenilacetic, ultimul fiind în mod obișnuit transformat în fenilacetilglutamină, care este excretat în urină. La majoritatea vertebratelor, cu excepția omului și a primatelor, excreția se face sub formă de fenilacetilglicocol (acid fenaceturic).



Prin decarboxilarea oxidativă a acidului fenilacetic rezultă acid benzoic, care se elimină sub formă de acid hipuric.

Principalele căi ale metabolizării fenilalaninei și ale tirozinei sînt cele de convertire în hormoni medulosuprarenali și hormoni tiroidieni ioduraţi. Fenilalanina și tirozina sînt precursori ai pigmenților melaninici.

Pigmenții melaninici (v. cap. Pigmenți animali) au o structură policiclică și se formează în melanocite sub acțiunea hormonului melanocit-stimulator (MSH), determinînd pigmentarea în brun pînă la negru a pielii la animalele superioare și adaptarea culorii la mediu la animalele inferioare. Procesul de oxidare este realizat de către fenoloxidază, numită și tirozinază. Formarea pigmenților melanici este redată în figura 10.39.

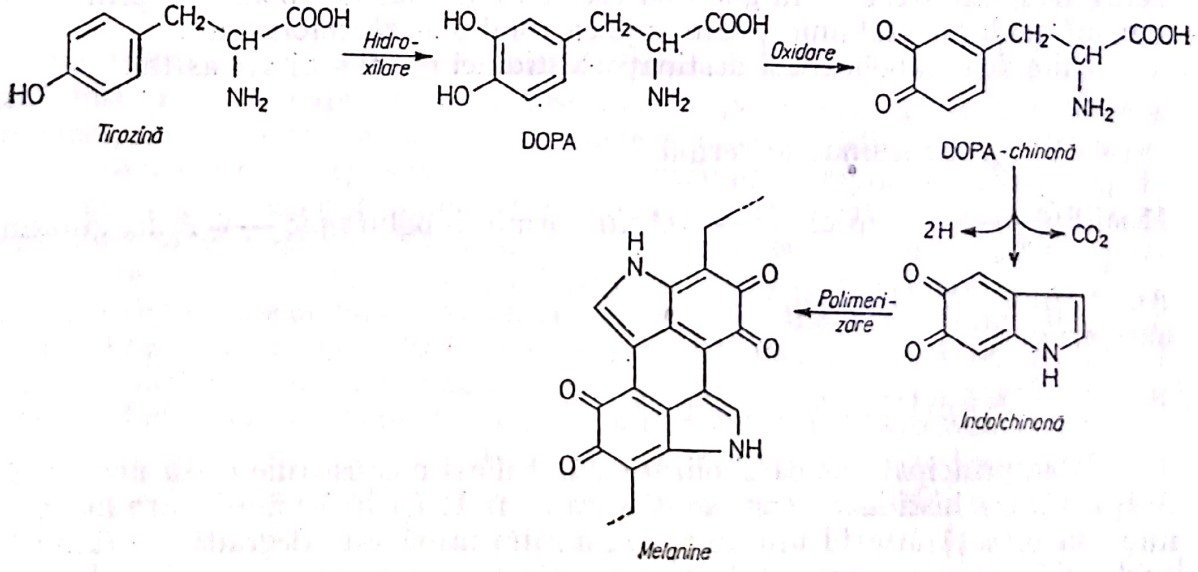
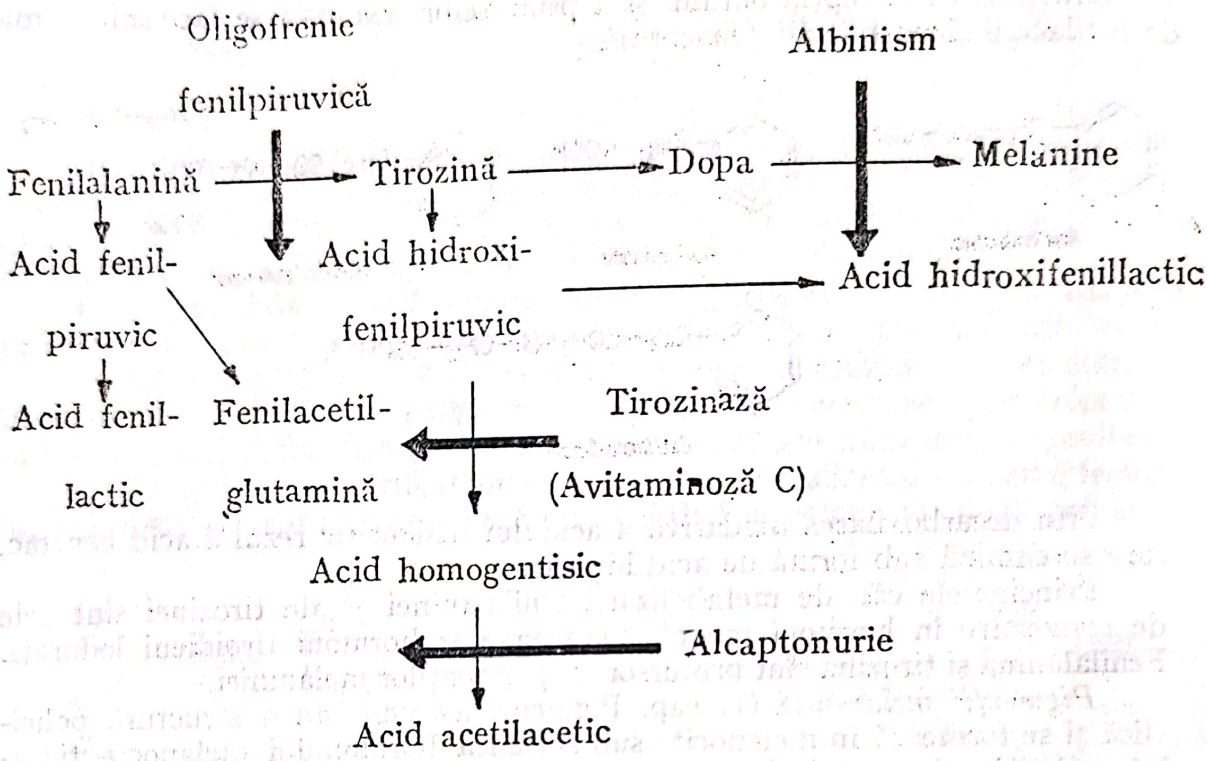


Fig. 10.39. Catabolizarea tirozinei în pigmenți melaninici.

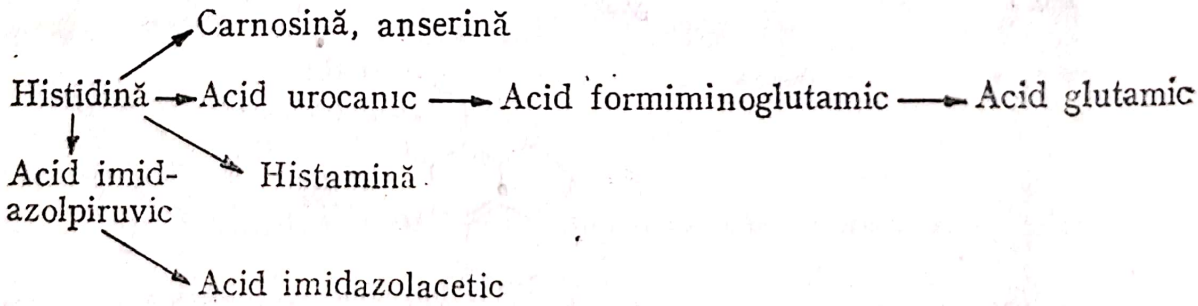
Formarea ciclului indolic, probabil și polimerizarea indolchinonei sînt reacții spontane. În cazul cînd oxidarea tirozinei este incompletă are loc formarea de fenol sau paracrezol, compuși toxici, care sînt neutralizați prin formare de esteri sulfurici și de glicozizi cu acidul glucuronic, forme care apoi sînt eliminate prin urină.

Tulburări congenitale ale metabolismului fenilalaninei și tirozinei. Se cunosc o serie de tulburări congenitale ale metabolismului acestor aminoacizi aromatici, după cum rezultă din schema următoare:



Catabolismul histidinei. Histidina este un aminoacid esențial pentru șobalanul adult și în creștere și pentru alte animale, dar nu pentru om. De asemenea, histidina nu este grupată printre aminoacizii glucoformatori și nici printre cei cetogenici, dar trecerea în glicogen este posibilă, iar catabolizarea prin intermediul acidului glutamic poate explica rolul său glucoformator.

Căile de catabolizare și destinația histidinei pot fi schițate astfel:



Calea principală de catabolizare a histidinei o constituie calea urocanică. Sub acțiunea histidazei, care se găsește în ficat (și în bacterii), are loc deaminarea directă la acid urocanic. Acesta din urmă este degradat oxidativ la acid imidazolonpropionic, de la care reacția este deviată: o cale duce la acid hidantoinpropionic, iar alta la acid formiminoglutamic. Acesta din urmă, în

prezență de THF, cedează restul formil și formează acid glutamic. Acidul hidantoinpropionic este excretat în urină la mamifere (fig. 10.40).

Prin deaminare oxidativă, histidina trece în acid imidazolpiruvic, de la care prin decarboxilare și oxidare, în hepatopancreas, ia naștere acidul imidazolacetic. În urma decarboxilării histidinei rezultă histamină, care prin

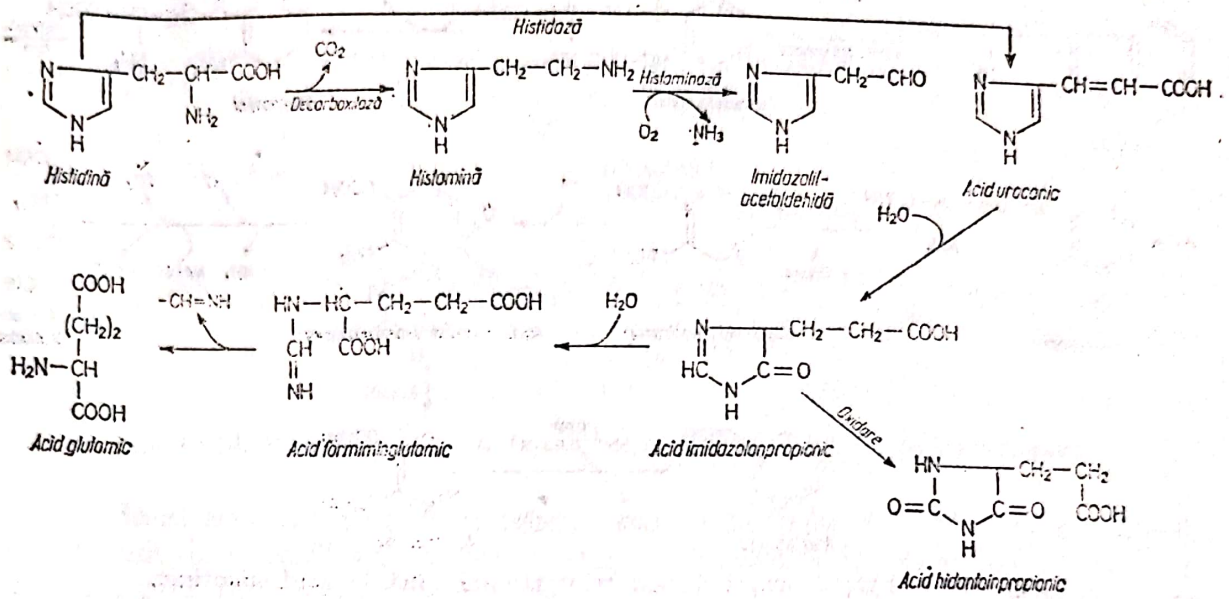
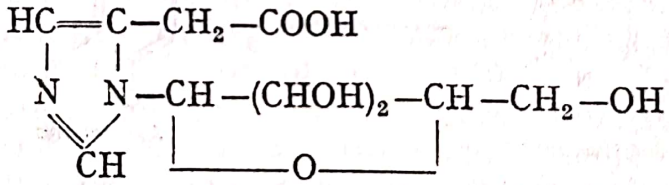


Fig. 10.40. Principalele etape în catabolizarea histidinei.

deaminare oxidativă dă naștere la acid imidazolacetic, care se regăsește în urină în stare liberă sau legat de riboză, sub formă de acid ribozilimidazolacetic.



Acid ribozilimidazolacetic

Ca tulburări congenitale ale metabolismului histidinei poate fi menționată histidinemia, care însoțește histidinuria și secreția urinară a acizilor imidazolpiruvic, -lactic și -acetic, care este cauzată de deficiența în histidază.

În *catabolizarea triptofanului* rezultă numeroși compuși de mare importanță pentru organismul animal, fapt ce relevă necesitatea organismului în acest aminoacid esențial. Triptofanul este necesar organismului în biosinteza proteinelor globulare cu activitate biologică, în formarea acidului nicotinic și al dehidrogenazelor nicotinamidnucleotidice, precum și ca donor de grupe formil. Procesul de catabolizare începe printr-o oxidare, în ficat, la nivelul ciclului indolic și sub acțiunea triptofanperoxidazei (oxidază porfirinică ce conține Fe^{2+}), cu formare de N-formilkinurenină. În continuare, formilkinurenina transferă restul formil unei molecule de acid tetrahidrofolic (THF) cu formare de kinurenină, care este oxidată în continuare la nivelul ciclului benzenic și apoi scindată catena laterală cu formare de alanină și acid 3-hidroxiantranilic. Acest ultim compus este transformat printr-o succesiune de reacții la care participă și fosfo-ribozil-pirofosfat(PRPP), în nicotin nucleotidă

și apoi în coenzime dehidrogenazice. Acidul 3-hidroxiantranilic poate fi transformat și pe altă cale, cu formare în cele din urmă de glutaril-CoA, care prin β-oxidare dă naștere la acetil-CoA și malonil-CoA. Aceste transformări sînt redate în figura 10.41.

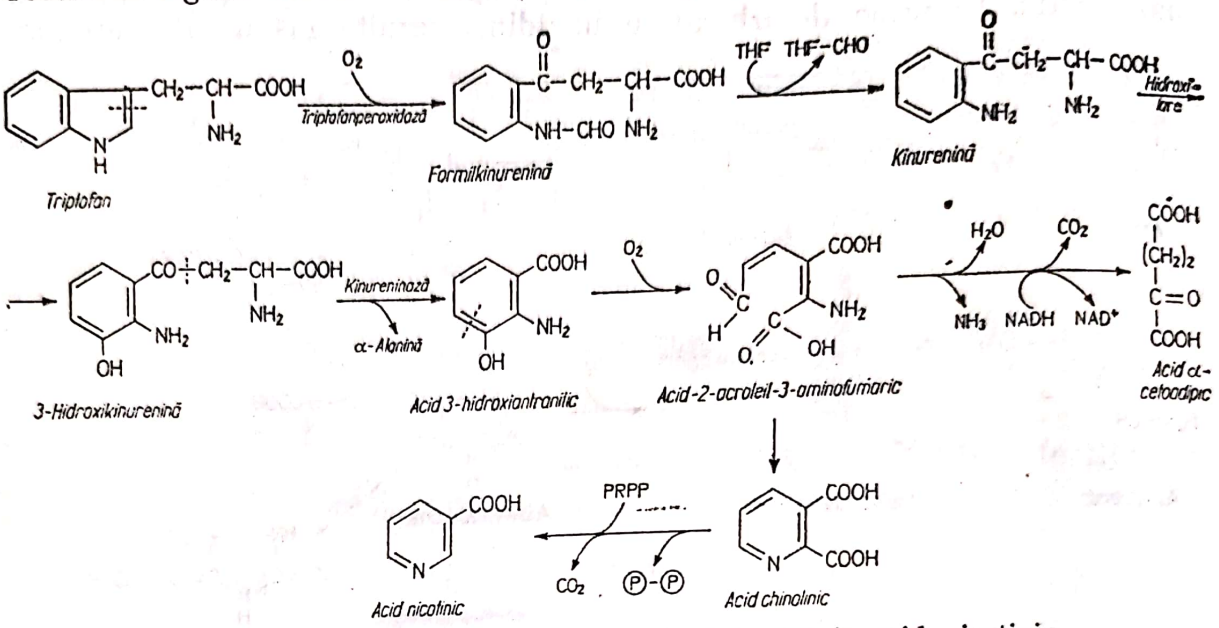
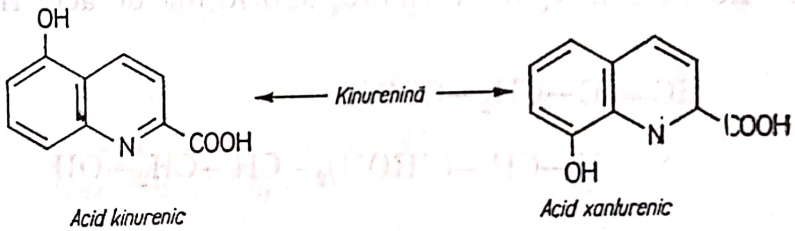
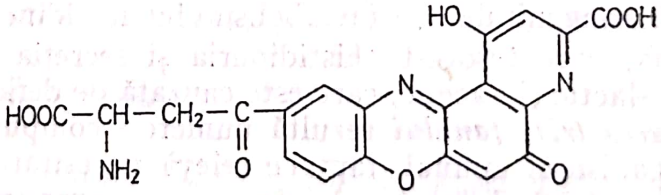


Fig. 10.41. Etapele catabolizării triptofanului pînă la acid nicotinic.

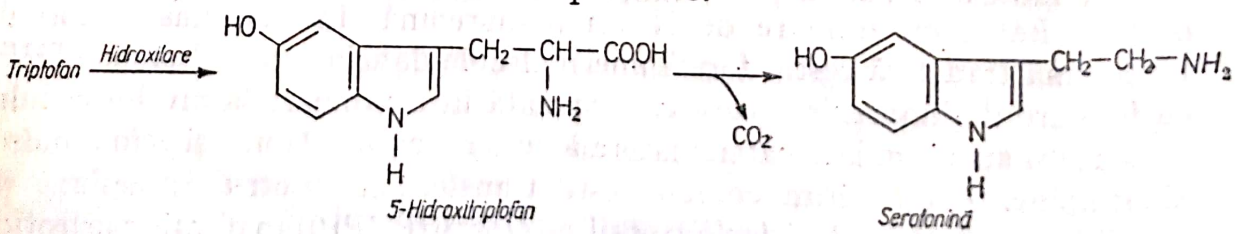
În catabolizarea triptofanului de la intermediarul kinurenină, poate devia procesul spre o cale secundară, cu formare de acid kinurenic, acid xanturenic și alți acizi.



Prin condensarea a două molecule de 3-hidroxikinurenină, cu oxidare și deaminare, se formează pigmenți ommocromici, numiți xantomatine.



Numeroși produși de catabolizare ai triptofanului se formează în urma unui proces de oxidare în celulele cromafine producînd serotonina, un metabolit cu acțiuni farmacodinamice importante.



În intestin, sub acțiunea bacteriilor intestinale, triptofanul suferă multiple transformări la nivelul catenei laterale luînd naștere o serie de compuși, care se elimină prin fecale sau urină. Dintre acești metaboliți mai importanți sînt: scatolul, care în cea mai mare parte se elimină odată cu fecalele, indolul și indoxilul, care se elimină prin urină. Indolul se elimină sub formă de uroindican, acizi indolilpiruvic și indolilacetic (fig. 10.42).

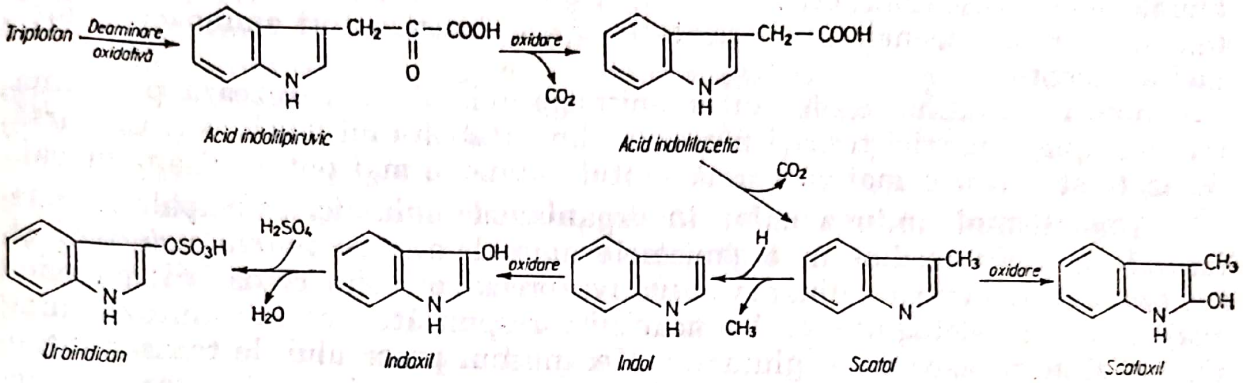


Fig. 10.42. Principalii produși de catabolizare și de eliminare ai triptofanului.

Indolul este absorbit în intestin și oxidat la indoxil, care apoi se elimină sub formă de uroindican. Acești produși se formează în organismele animale, atît din proteinele alimentare, cît și din enzimele digestive. Principalul agent microbian, care produce indican este *Bacillus coli communis*. Formarea de acizi indoxilsulfuric și scatolsulfuric are loc în ficat și în rinichi.

Tulburări ale catabolismului aminoacizilor. Ca urmare a întreruperii în anumite puncte a catabolizării aminoacizilor apar diferite defecte metabolice, cunoscute sub diverse boli. Aceste tulburări apar mai ales în catabolismul aminoacizilor aromatici, ca urmare a lipsei sistemelor enzimatice, la nivelul ficatului sau al țesuturilor, care asigură catabolizarea aminoacizilor respectivi. Dintre aceste tulburări mai importante sînt:

Albinismul. Este o dereglare catabolică, care se datorește întreruperii procesului de formare a melaninelor, întrucît lipsește dopa-oxidază, enzimă care participă la transformarea tirozinei în dihidroxifenilalanină (DOPA).

Alcaptonuria. Aceasta este o dereglare metabolică înnăscută și se caracterizează prin apariția în urină a acidului homogentizic. Această dereglare constă în imposibilitatea organismului de a oxida acidul homogentizic, numit alcapton, ca urmare a lipsei homogentizinoxidazei. Acidul homogentizic poate fi recunoscut în urină sau în țesuturi prin închiderea la culoare a acestora și mai ales în prezența luminii și a oxigenului.

Cistinoza. Se caracterizează prin depozitarea anormală de cistină în organism, îndeosebi în ficat, în ochi, în rinichi și în splină.

Carența formării nicotinamidei. În lipsa piridoxalfosfatului, organismul animal nu poate să-și sintetizeze nicotinamida din triptofan.

Fenilcetonuria. Este o boală care se caracterizează prin eliminarea în urină în cantitate mare a acidului fenilpiruvic. Această dereglare catabolică constă în blocarea transformării fenilalaninei în tirozină (din lipsă de fenilalaninhidroxilază) astfel că fenilalanina este numai deaminată. Acidul fenilpiruvic se acumulează în sînge și devine dăunător pentru sistemul nervos. Eliminarea acidului fenilpiruvic se face prin urină. Fenilcetonuria este o boală congenitală.

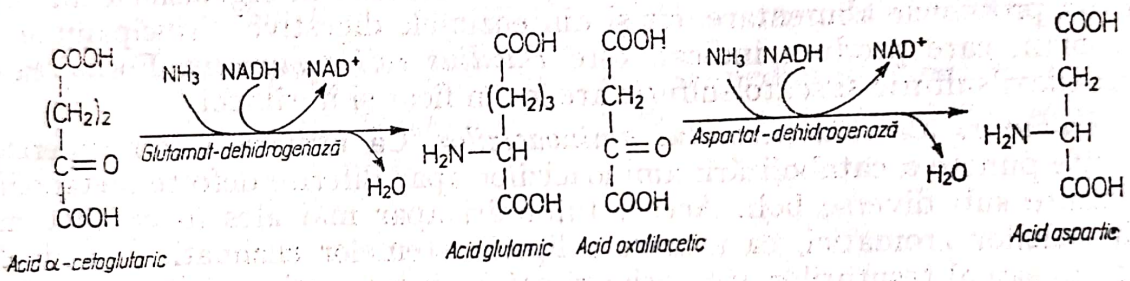
Scanned with OKEN Scanner

Aminoacizii din organismele animale provin atît din proteinele alimentare, cît și din proteinele proprii în urma hidrolizei. Proteinele proprii se reînnoiesc în continuu. În organismele animale are loc și o biosinteză proprie de aminoacizi. Această biosinteză este limitată doar la o parte din aminoacizi și anume la cei neesențiali; cei esențiali sînt procurați din hrană. În schimb plantele și microorganismele au capacitatea de a sintetiza toți aminoacizii, fără nici o excepție.

Biosinteza aminoacizilor în organismele animale se realizează pe seama unor compuși organici ternari proveniți din catabolismul glucidelor. Ca sursă de azot este utilizat mai cu seamă azotul aminic și mai puțin cel amoniacal.

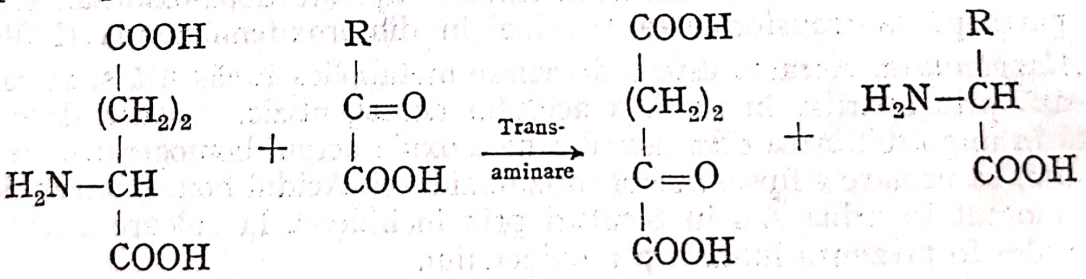
Anabolismul aminoacizilor în organismele animale. Principala cale de formare a aminoacizilor în organismele animale este *aminarea reductivă* și *transaminarea*. Pentru aminarea reductivă precursorii sînt cetoacizii: piruvic, oxalilacetic și α-cetoglutaric. Aminoacizii corespunzători ce se formează sînt: alanina și acizii aspartic și glutamic. Mecanismul procesului de transaminare și enzimele implicate în biosinteză sînt cele care participă și la procesele de catabolizare ale aminoacizilor, cu deosebirea că sensul este inversat.

Prin procesul de aminare reductivă se formează și aminoacizi cu caracter acid:



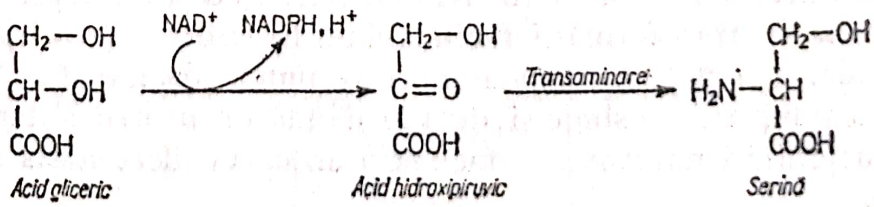
Acid α-cetoglutaric — Acid glutamic — Acid oxalilacetic — Acid aspartic

Acidul aspartic se poate forma și prin aminarea acidului fumaric. Aminoacizii rezultați prin procese de aminare reductivă sau de transaminare pot lua parte apoi la diferite alte transaminări ale α-cetoacizilor:



Acid glutamic — α-Cetoacid — Acid α-cetoglutaric — α-Aminoacid

O serie de precursori ai aminoacizilor sînt cataboliți ai glucidelor. Astfel, de la trioze rezultă acid hidroxipiruvic, de la care prin transaminare cu acid glutamic se obține serina:



Acid gliceric — Acid hidroxipiruvic — Serină

De asemenea, se poate forma serină din acid fosfogliceric, care este dehidrogenat la acid 3-fosfopiruvic, de unde etapele sînt cele arătate mai sus.

Serina se poate forma și din glicocol și acid N-10-formil-THF, după cum s-a arătat la catabolismul glicocolului și al serinei. La rîndul ei, serina participă la biosinteza cisteinei.

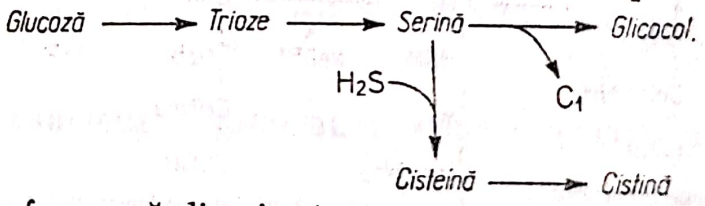
Aminoacizii cu caracter bazic iau naștere în organismele animale pe calea ciclului ureogenetic sau de la semialdehida glutamică rezultată din catabolismul ornitinei. În acest fel iau naștere ornitina și arginina.

Anabolismul aminoacizilor în microorganisme și în plante. Atît microorganismele, cît și plantele pot realiza biosinteza aminoacizilor. Ele pot sintetiza peste 200 aminoacizi, dar mai importanți sînt 25—30. Căile de biosinteză sînt aminarea reductivă a cetoacizilor și transaminarea, deci aceleași ca și la animale, dar la microorganisme și plante există o mult mai mare varietate de precursori, iar azotul este în mare măsură de natură anorganică. Avînd în vedere că plantele pot utiliza CO_2 și H_2O în formarea de glucide, iar cataboliți ai glucidelor sînt precursori ai aminoacizilor, se poate afirma că celula vie realizează biosinteza aminoacizilor și deci a proteinelor din compuși de natură anorganică.

În plante și în microorganisme azotul amoniacal necesar biosintezei provine din azotații luați din sol sau chiar din azotul din atmosferă, în cazul microorganismelor fixatoare de azot. Întrucît amoniacul este toxic pentru celula vie, el este mai întîi fixat sub formă de aspargină și glutamină, care devin donori de azot aminic în reacțiile de transaminare. Mai mult, microorganismele și plantele economisesc rezervele de azot, astfel că ele nu elimină amoniacul cu alți compuși azotați prin procese de deaminare, ci îl reutilizează. Astfel, ureea rezultată este transformată de către urează în amoniac, iar acesta este fixat și depozitat sub formă de asparagină și glutamină.

Scheletul aminoacizilor este furnizat de către metaboliți ai glucidelor și anume: trioze, acid piruvic, acid α-cetoglutaric și pentozofosfați.

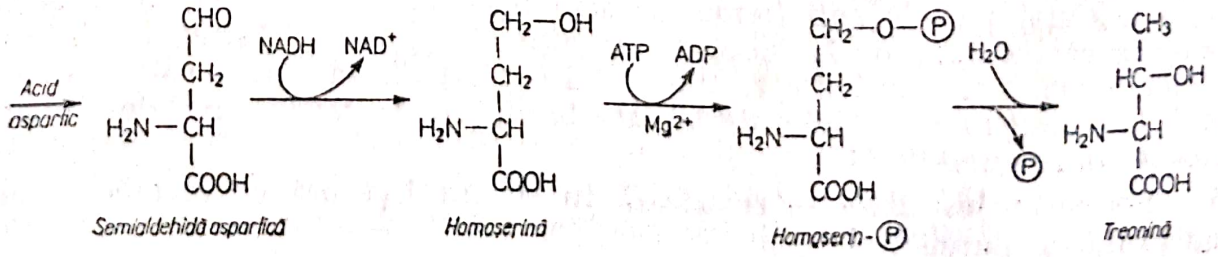
Din *trioze* se formează aminoacizi: glicocol, serină, cistină și cisteină. Sulful necesar pentru biosinteza tioaminoacizilor provine din H_2S. În cazul anabolismului în microorganisme sursa de sulf este chiar sulful elementar. În linii mari, anabolismul unor aminoacizi din trioze poate fi redat astfel:



Metionina se formează din cisteină și homoserină, printr-un proces invers celui de catabolizare arătat mai înainte.

De la acidul piruvic se formează alanina, acidul aspartic, homoserina, lizina, leucina, izoleucina, metionina, treonina și valina.

Pentru biosinteza treoninei precursorul este acidul aspartic, care este transformat mai întîi în semialdehida aspartică și apoi în homoserină, după următorul mecanism:



În biosinteza *valinei*, *leucinei*, și *izoleucinei* se pleacă de la acidul piruvic și acetaldehidă (legată de tiaminpirofosfat), prin cuplarea cărora se formează intermediar acidul α-ceto-izovalerianic, de la care rezultă apoi valina și leucina, conform figurii 10.43.

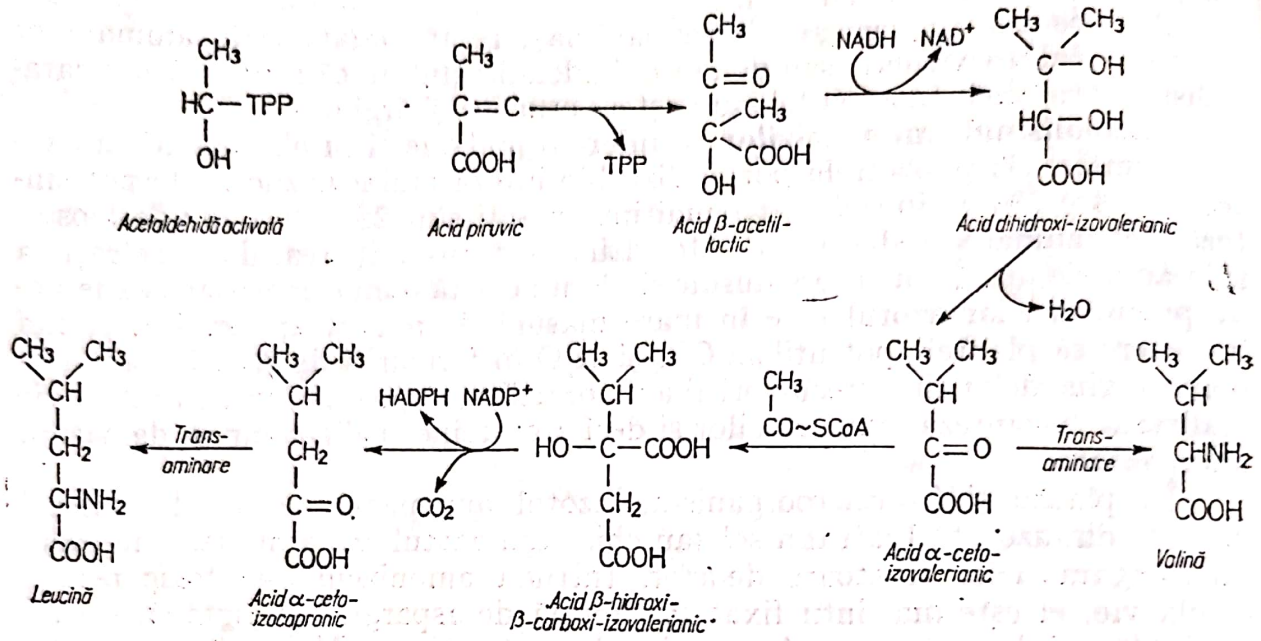
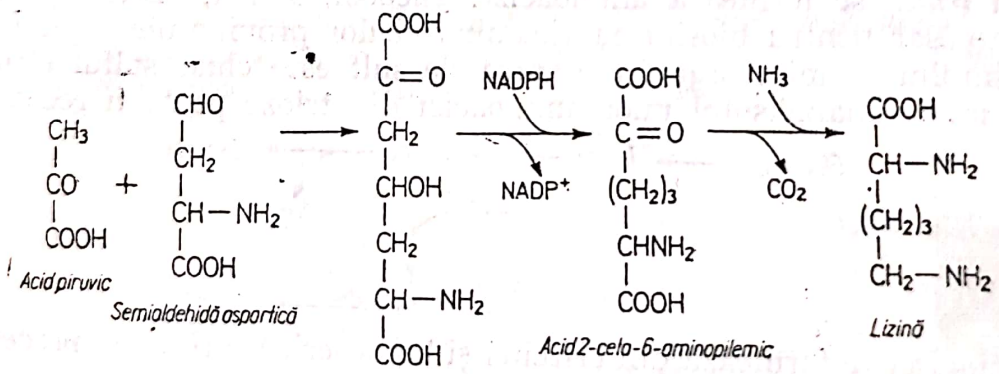


Fig. 10.43. Biosinteza valinei și leucinei.

Precursorii în biosinteza *lizinei* sînt acidul piruvic și semialdehida aspartică, care dau naștere mai întîi la un intermediar cu șapte atomi de carbon de la care apoi printr-o succesiune de reacții rezultă lizina:



De la acidul α-cetoglutaric se formează acidul glutamic, ornitina, arginina, prolina și hidroxiprolina, așa cum s-a arătat.

Pentozofosfații constituie precursorii aminoacizilor aromatici și heterociclici. În biosinteza acestor aminoacizi participă nu numai pentozofosfații, ci și diferiți metaboliți ai glucozei degradate pe calea pentozofosfaților, precum și ai acidului piruvic sub formă de acid fosfoenolpiruvic. Unii aminoacizi parcurg căi comune de la început, iar alții căi specifice. Astfel, biosinteza fenilalaninei, a tirozinei și a triptofanului parcurge la început o cale comună pînă la acidul fosfoshikimic, de la care biosinteza ia căi diferite, după cum rezultă din figura 10.44.

Formarea histidinei se realizează în strînsă legătură cu metabolismul nucleotidelor purinice.

Scanned with OKEN Scanner

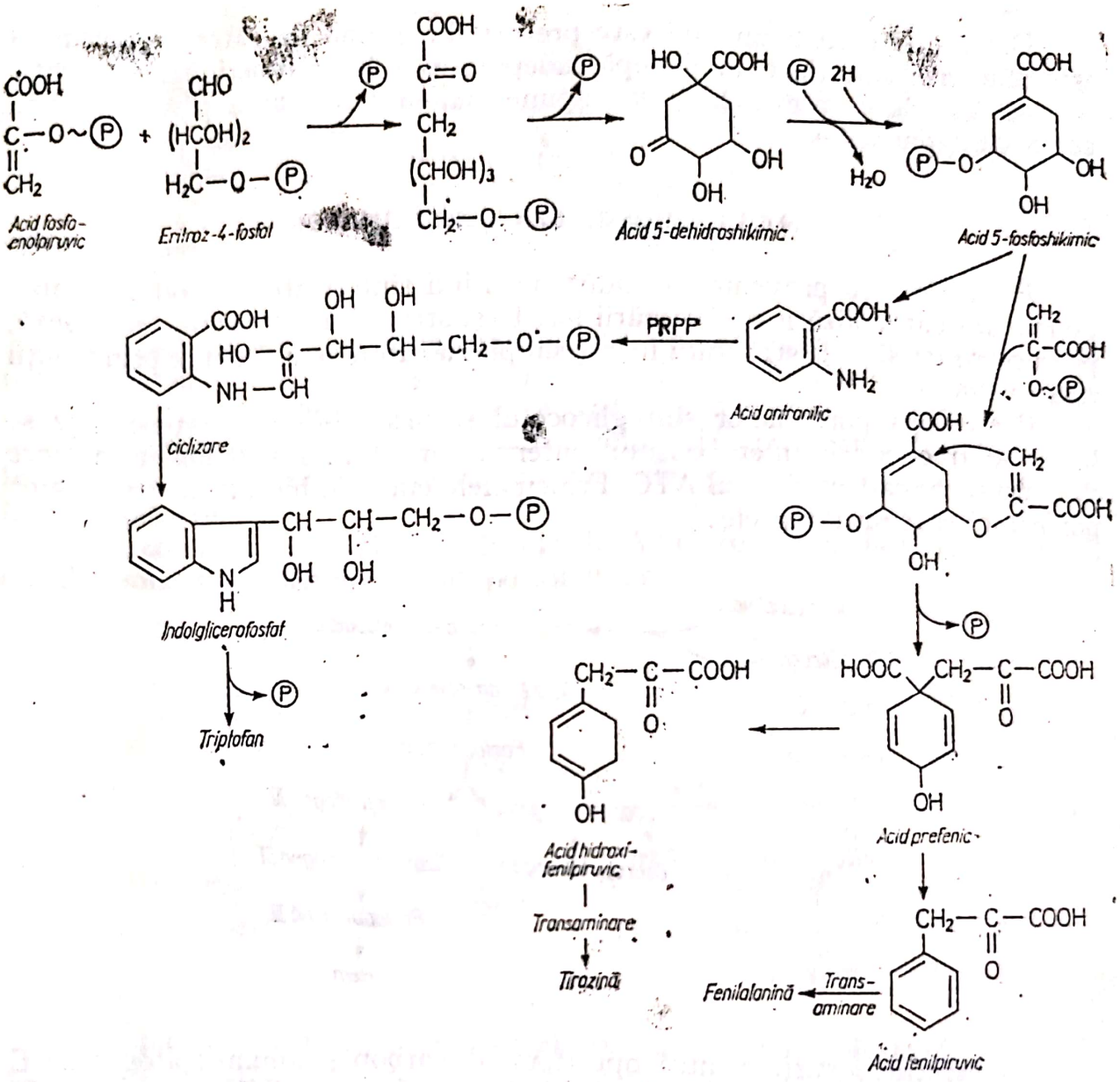


Fig. 10.44. Biosinteza aminoacizilor aromatici.

10.6.3. METABOLISMUL COMPUȘILOR CU STRUCTURĂ PORFIRINICĂ

În organismele animale compușii porfirinici se află sub formă de cromoproteide și îndeplinesc funcții biochimice de mare importanță. Cele mai importante porfirinoproteide sînt hemoglobinele, mioglobinele, citocromii și oxidazele. Mai bine cunoscut este metabolismul hemoglobinei, întrucît este cea mai răspîndită porfirinoproteidă.

Metabolismul intermediar al compușilor porfirinici se deosebește de metabolismul celorlalți compuși. Astfel, anabolismul porfirinelor, respectiv al hemoglobinei nu beneficiază de aportul din hrană a grupării prostetice, întrucît aceasta nu este digerată. Totodată, nu există indicii că hemoglobina înglobată în hematii ar fi supusă proceselor de anabolism după metodele celorlalți componenți ai organismului, ci ea este catabolizată numai odată cu inactivarea hematiilor. Mai mult, nici după degradarea în cadrul catabolismului hemul nu este reutilizat pentru anabolism, ci este eliminat din organism, astfel că este necesară sinteza lui de fiecare dată din nou din componente.

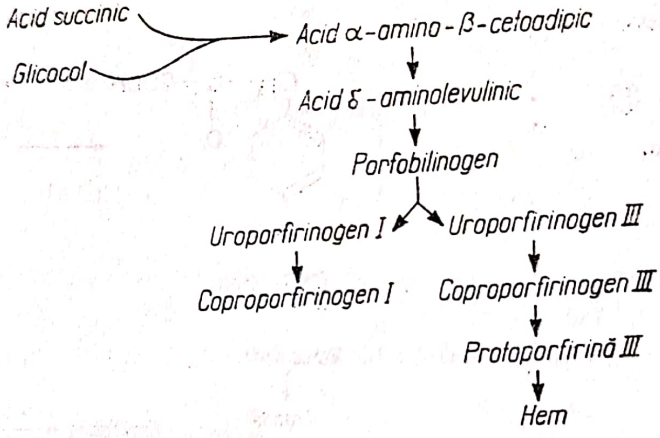
Scanned with OKEN Scanner

Din motivul că hemul nu este preluat din hrană de către organism, ci este mai întîi sintetizat, apoi după îndeplinirea rolului funcțional este catabolizat, în cele ce urmează se va expune mai întîi formarea și numai după aceea degradarea lui.

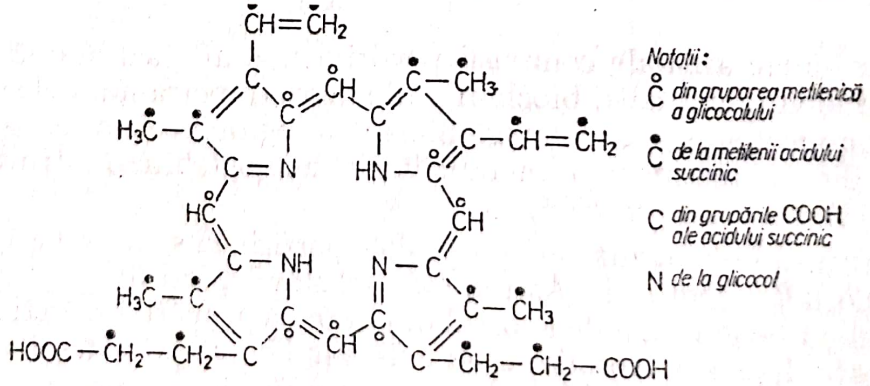
10.6.3.1. BIOSINTEZA PORFIRINELOR

Porfirinele au proveniență endogenă, fiind sintetizate în mod continuu, pe măsura catabolizării și eliminării lor. Deși structura este așa de complexă, precursorii lor sînt de structură foarte simplă, iar formarea decurge prin reacții relativ simple.

Precursorii porfirinelor sînt glicocolul și succinil-CoA, compuși care se întîlnesc frecvent în metabolismul intermediar. Acidul succinic ia naștere din acetat, în cadrul ciclului ATC. Principalele etape în biosinteza compușilor porfirinici sînt următoarele:

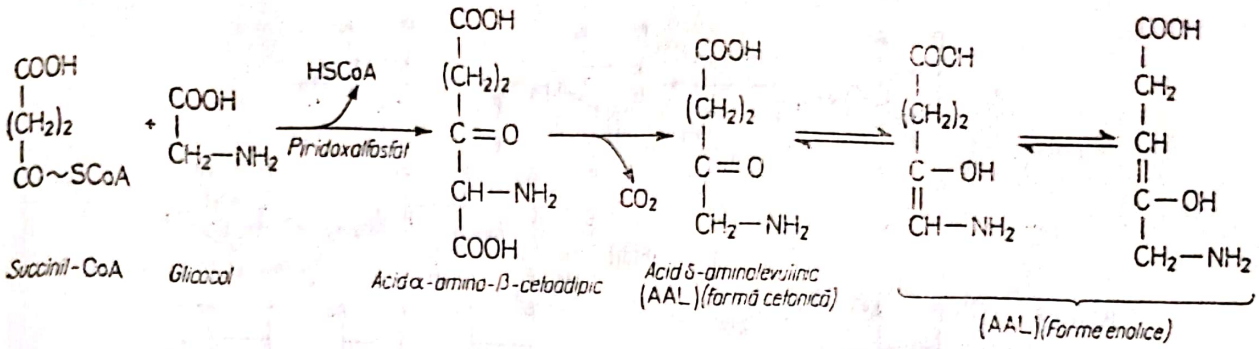


În scheletul porfirinic intră opt atomi de carbon și anume: atomii de C din gruparea metilenică (nu intră cei din gruparea carboxilică) și atomii de N din gruparea aminică ai glicocolului, iar ceilalți 26 atomi de C provin din acidul succinic.



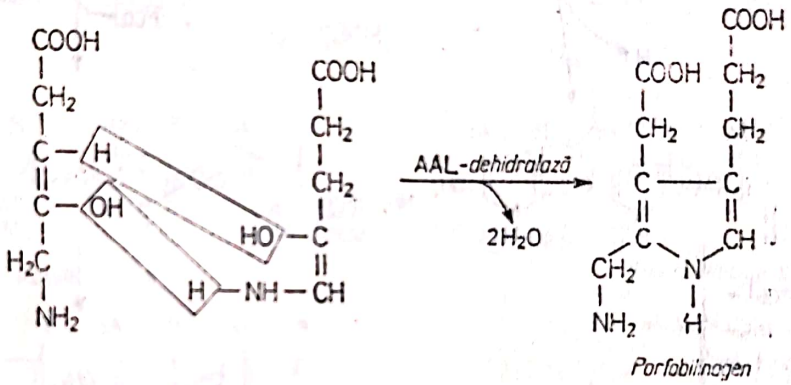
Proveniența atomilor de C și N în ciclul porfirinic

Mecanismul biosintezei. Prima etapă în formarea acidului pirolic se realizează prin condensarea glicocolului cu succinil-CoA, producînd acidul α-amino-β-cetoadipic, care este apoi decarboxilat la acid δ-aminolevulinic.



În acest proces sînt necesare: enzimă de condensare, piridoxalfosfat, tiaminpirofosfat, acid lipoic și ioni de Mg^{2+}. Principala enzimă a sistemului este aminolevulinat-sintetaza, care se află în mitocondrii. Acidul succinic necesar biosintezei este furnizat de către ciclul ATC, prin catabolizarea acidului glutamic și carboxilarea acidului propionic, proces ce are loc îndeosebi la rumegătoare.

Prin condensarea a două molecule de AAL, forme enolice, se formează ciclul pirolic trisubstituit, numit porfobilinogen:



Reacția de condensare este catalizată de aminolevulinat-dehidratază, care a fost izolată din eritrocite. În structura acestei enzime se află Cu^{2+} și grupări $-NH_2$ și $-SH$, fapt pentru care este activată de cisteină și de glutation.

Dovezi asupra faptului că porfobilinogenul este un intermediar în formarea porfirinelor au fost aduse cu ajutorul atomilor marcați (S h e m i n și R i t t e n b e r g, 1946), cînd au putut fi obținuți, la utilizarea de eritrocite, diferite porfirine, și anume: urocoproporfirine, coproporfirine, protoporfirine și hem, precum și apariția porfobilinogenului în urina animalelor bolnave de porfirii acute.

Etapa următoare, de condensare a porfobilinogenului la ciclul porfirinic, nu este încă pe deplin elucidată, dar au fost aduse dovezi și interpretări în acest sens. Astfel, se afirmă că prin condensarea a două molecule de porfobilinogen rezultă un dipirilmetan, care se condensează cu o a treia moleculă de porfobilinogen și se formează un tripirilmetan, iar acesta din urmă se condensează cu o altă moleculă de porfobilinogen și dă naștere la compusul tetrapirolic liniar care, prin ciclizare, este convertit în uroporfirinogen I sau III (fig. 10.45).

Prin decarboxilarea celor patru resturi de acid acetic din molecula uroporfirinogenului III se formează coproporfirinogen III, care prin dehidrogenare trece în coproporfirină III. Coproporfirinogenul III este decarboxilat și dehidrogenat la nivelul resturilor de acid propionic din ciclurile pirolice I

Scanned with OKEN Scanner

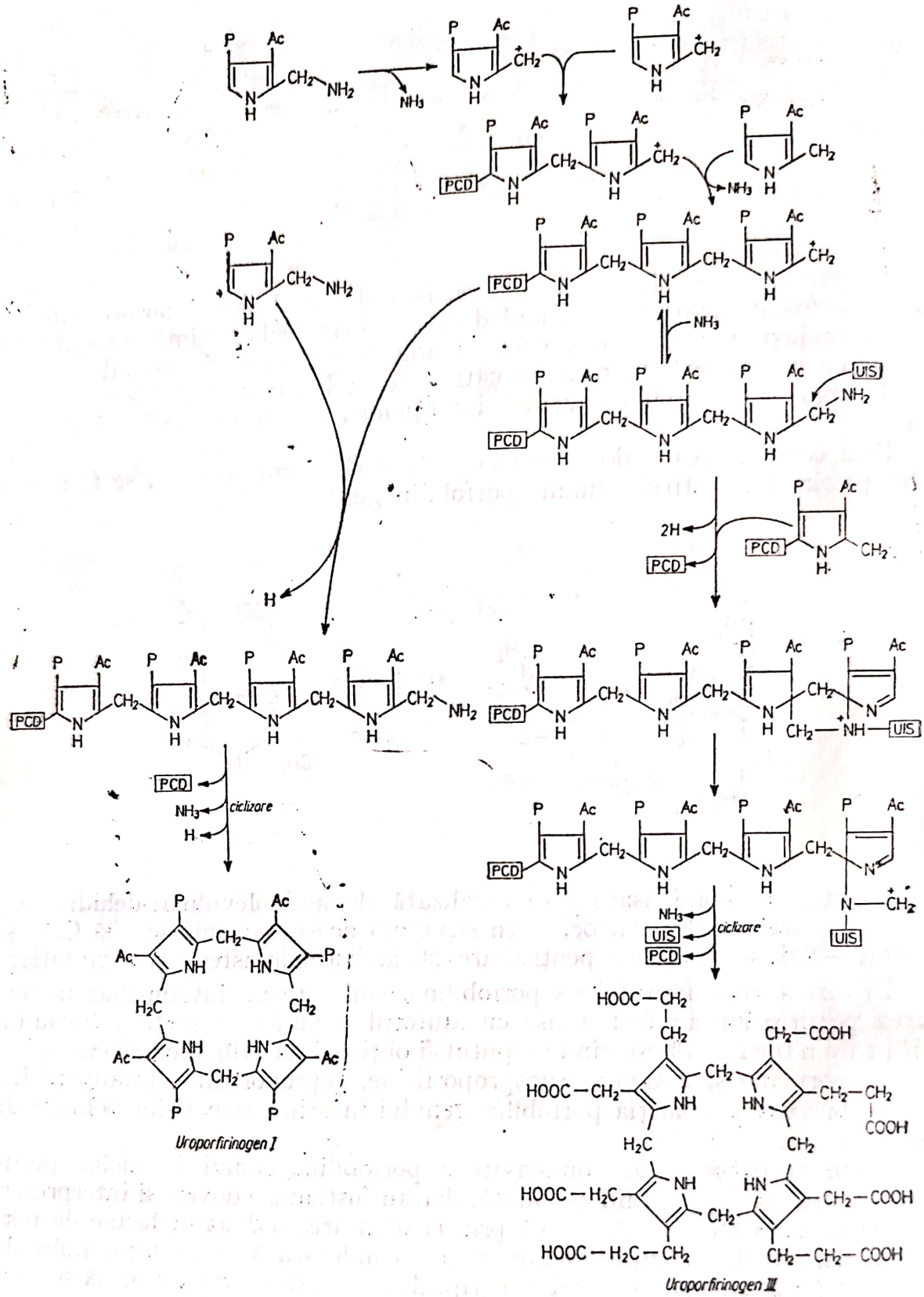


Fig. 10.45. Biosinteza compușilor porfirinici: formarea ciclului porfirinic din compuși monopirolici:
P — acid propionic; *Ac* — acid acetic; *PCD* — porfobilinogenciclodeaminază; *UIS* — uroporfinogenizomerază.

și II, care trec în resturi vinilice, obținîndu-se protoporfirinogen III. Aceasta din urmă, prin dehidrogenare, trece în protoporfirină, care este porfirina specifică din structura hemului. Succesiunea de reacții este redată în figura 10.46.

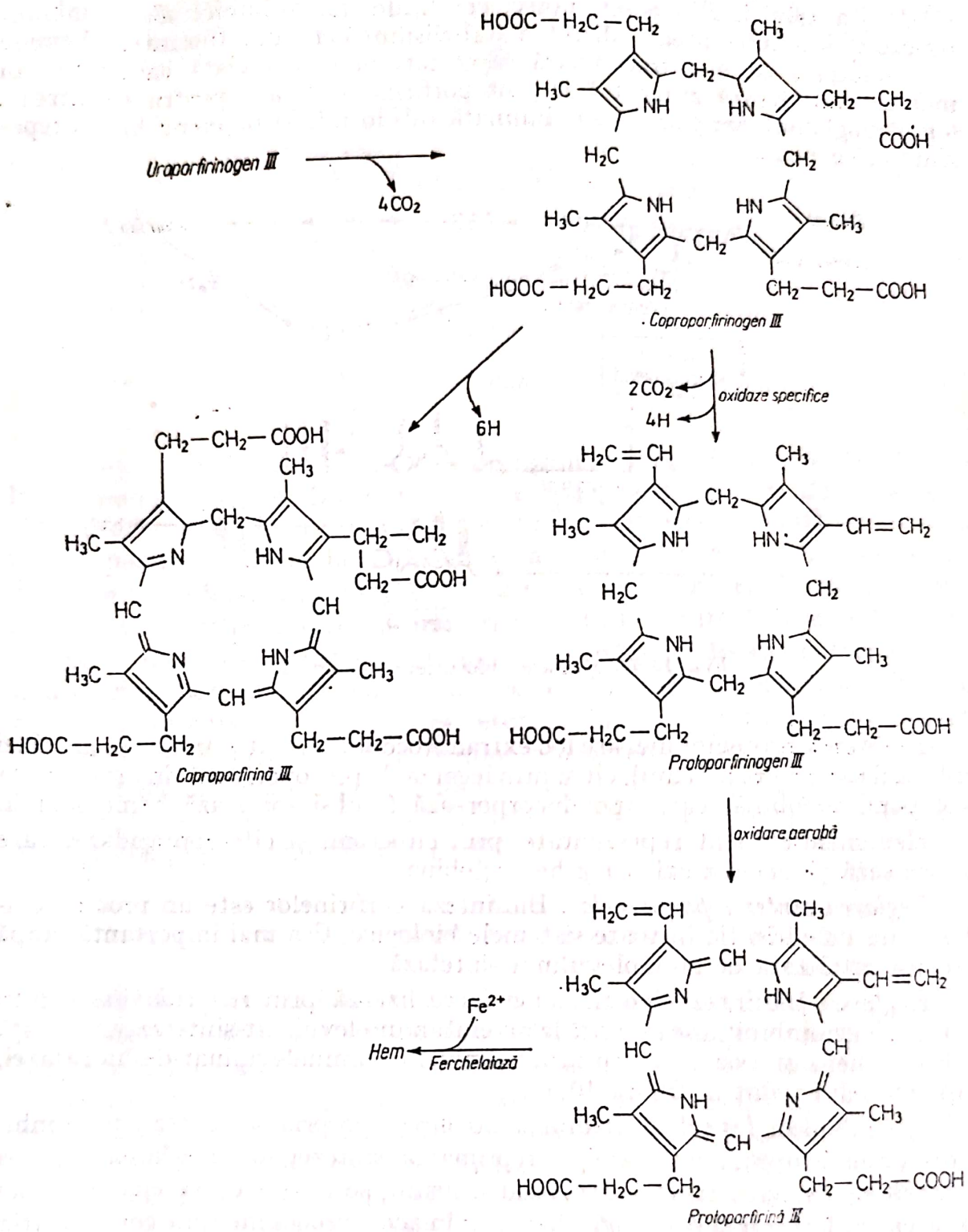


Fig. 10.46. Biosinteza compușilor porfirnici: etapele de transformare a ciclului porfinic în porfirinic.

Biosinteza hemului, a hemoglobinei și a hemenzimelor. Ionul de Fe^{2+} necesar formării hemului se află în organism sub formă de feritină, iar prin unirea hemului cu globina rezultă hemoglobina. Încorporarea ionului feros în scheletul porfirinic cu formare de hem se face enzimatic, în prezența ferchelatazei, care se află în membrana mitocondriilor celulelor animale și a urmelor ionilor de cupru. În decursul formării hemului precursorii lui trec de mai multe ori membrana mitocondrială, deoarece sistemele enzimatice sînt localizate în faza

Scanned with OKEN Scanner

solubilă a celulei. Din acest motiv, condițiile fizico-chimice ale membranei mitocondriale influențează direct metabolismul hemului. Biosinteza hemului este realizată cu o extraordinară rapiditate și este reglată cantitativ. Un individ sintetizează zilnic 0,5 g protoporfirină necesară pentru formarea a 6 g hemoglobină, iar cantitatea eliminată sub formă de pigmenți biliari reprezintă 0,5 g pe zi.

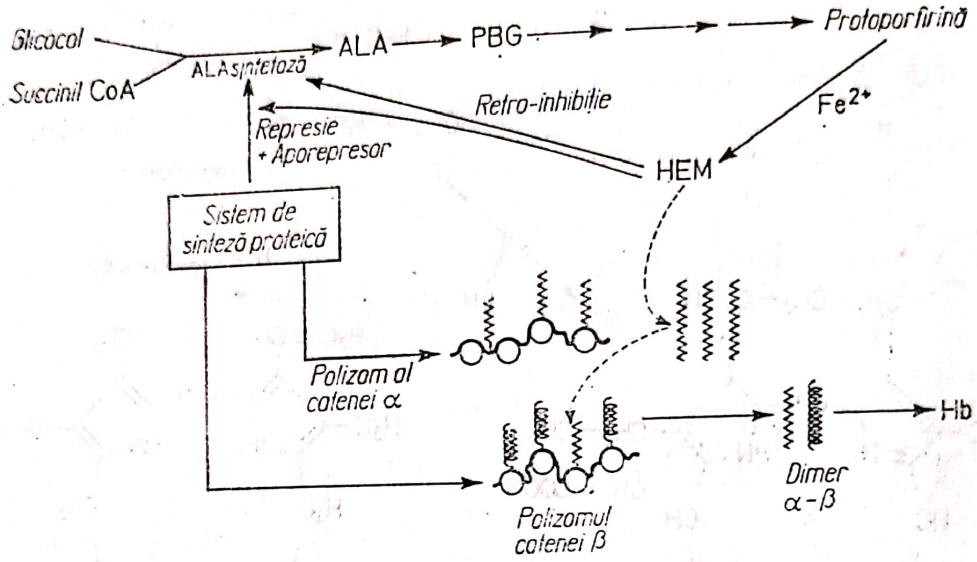


Fig. 10.47. Reglarea biosintezei porfirinelor.

Formarea hemoglobinei are loc extramitocondrial, atît prin unirea globinei cu hemul sau cu protohemul, cît și prin legarea de protoporfirină, în așa-numita protoporfiringlobină, care apoi încorporează ferul și formează hemoglobina.

Hemenzimele sînt reprezentate prin citocromi și citocromozidaze, care se formează pe aceeași cale ca și hemoglobina.

Reglarea sintezei porfirinelor. Biosinteza porfirinelor este un proces complex și nu este identic în toate sistemele biologice. Cea mai importantă etapă este cea catalizată de aminolevulinat-sintetază.

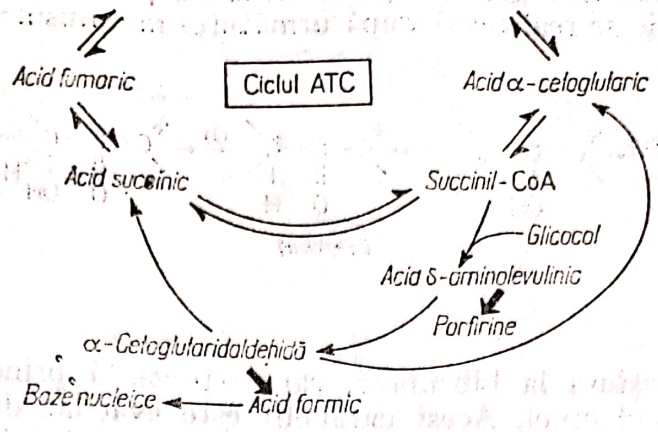
Reglarea biosintezei porfirinelor se realizează prin *retroinhibiție* și prin *represie.* Retroinhibiția se exercită la nivelul amino-levulinat-sintetazei, inhibată de către hem și poate fi asociată la nivelul aminolevulinat-deshidratazei, după modelul redat în figura 10.47.

Rezultă deci faptul că hemul controlează propria sa sinteză prin inhibarea aminolevulinat-sintetazei și reprimarea sintezei lui. Reglarea sintezei globinei se exercită în faza următoare: hemul se unește cu catena α și apoi cu catena β. Utilizarea continuă a hemului în acest proces menține concentrația hemului liber la un nivel de bază, care favorizează sinteza aminolevulinat-sintetazei.

Controlul biosintezei porfirinelor prin represia aminolevulinat-sintetazei se realizează prin combinarea hemului în exces cu un aporepresor inactiv pentru a da un represor activ. Acțiunea compușilor care asigură sinteza porfirinelor se explică prin formarea unui compus capabil de a se combina cu aporepresorul așezat în locul hemului.

Întregul proces biosintetic este strîns legat de ciclul ATC și decurge și el în mod ciclic, numit ciclul Shemin sau succinat-glicocol.

Scanned with OKEN Scanner



Ciclul Shemin

Porfirii. Dereglarea procesului de formare a compușilor porfirinici duce la așa-numite porfirii. După locul unde apar, porfiriile sînt de două feluri: porfirii eritropoetice, în care are loc o sinteză excesivă de porfirine în centrii hematopoetici și porfirii hepatopoetice, în care se petrece o sinteză exagerată de porfirine în ficat. Unele dintre porfirii sînt de natură ereditară. La bovine, mai frecvent întîlnită este porfiria eritropoetică ereditară. Manifestarea porfiriilor se face prin apariția în sînge , în urină și în fecale a unor cantități mai mari de porfirine normale și patologice. Bovinele elimină prin urină îndeosebi coproporfirină și mult mai rar uroporfirină. În cazul porfiriilor avansate are loc o pigmentare în brun a dinților și a oaselor. Recent, s-a constatat că porfiriile pot fi anihilate prin administrarea în alimentație a compușilor polienici, cum sînt carotinoidele, dar la scurt timp după încetarea administrării acestor compuși se reinstalează porfiria.

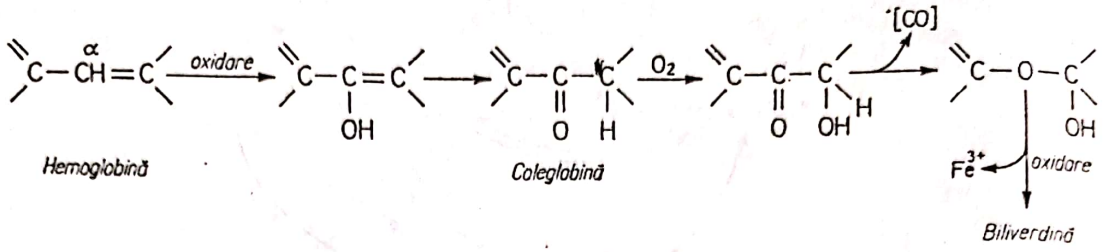
10.6.3.2. CATABOLISMUL PORFIRINELOR

Compușii porfirinici și în primul rînd hemoglobina încep să fie cataboliza ți odată ce globulele roșii (eritrocite) au fost distruse în urma proceselor biochimice normale. De aceea catabolismul hemoglobinei depinde de viața globulelor roșii. Aceste globule iau naștere prin procesul de hematopoeză în măduva oaselor plate. Viața globulelor roșii din circuitul sanguin este de aproximativ 3—4 luni, după care celulele lezate și cele îmbătrînite sînt înlocuite cu cele noi. Degradarea hemului are loc în sistemul reticuloendotelial (îndeosebi în ficat, în splină și în măduva oaselor). Din globulele roșii lezate, hemoglobulina este degradată oxidativ. Mai întîi au loc modificări în ansamblul moleculei, iar apoi se petrec transformări în deschiderea ciclului porfirinic, cu pierderea globulinei și a ferului din hem. Globulina este hidrolizată la aminoacizi, ferul depozitat în feritină, iar protoporfirina transformată în pigmenți biliari.

Procesul catabolizării hemoglobinei este complex. Mai întîi hemoglobina din hematiile lezate este transformată prin deschiderea ciclului porfirinic și eliminarea unui atom de carbon sub formă de oxid de carbon în *verdoglobină*, se formează *verdocromogen*, după care urmează scindarea moleculei denaturate

Scanned with OKEN Scanner

în cele trei componente: globină denaturată, fer și *biliverdină*. Îndepărtarea carbonului metinic se realizează după următorul mecanism:

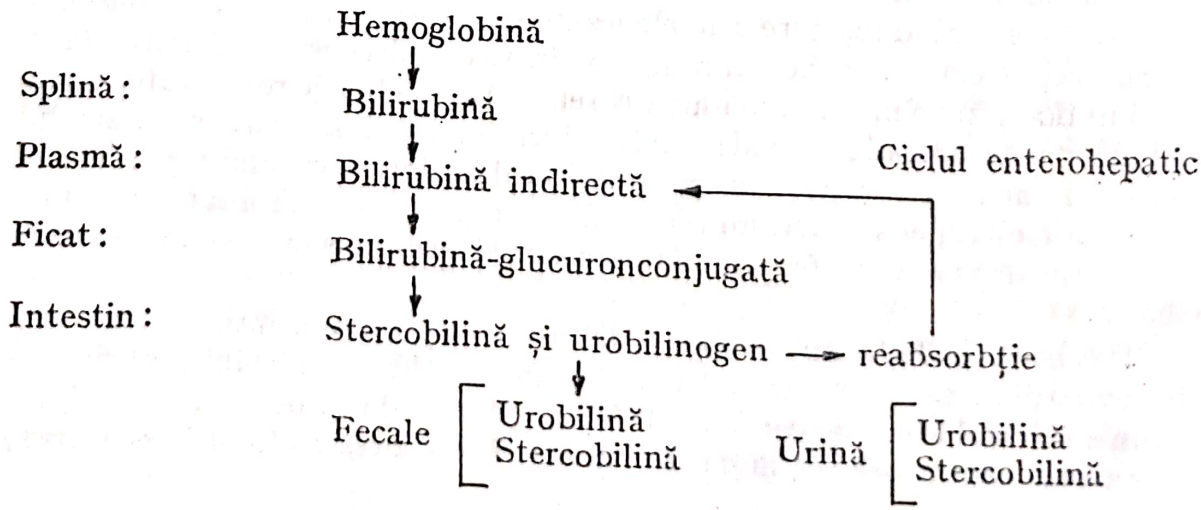


Biliverdina este redusă la bilirubină, care reprezintă principalul produs al catabolizării hemoglobinei. Acest catabolit este evacuat din ficat odată cu bila, sub formă legată de acid glucuronic, care este solubil în apă, iar apoi în tractul intestinal, sub acțiunea bacteriilor este transformat în urobilină și după aceea în stercobilină, care sînt principalii produși de eliminare în urină și în fecale. Bilirubina formată în splină este transportată prin sînge la ficat care asigură eliminarea ei după cuplare cu acidul UDP-glucuronic (la nivelul resturilor propionice) sub acțiunea UDP-glucuroniltransferazei. O mică parte de bilirubină este sulfoconjugată. În plasmă, bilirubina nu este conjugată, dar este legată de seralbumină și apoi glucuronoconjugată în bilă.

Destinația bilirubinei și ciclul enterohepatic. Bilirubina, sub formă glucuronoconjugată, este deversată odată cu bila în intestin unde sub acțiunea bacteriilor este hidrolizată. Pentru aceasta bilirubina este hidrogenată la nivelul restului vinil din ciclurile pirolice I și II și la grupele CH trecîndu-le la CH_2 cu formare de urobilinogen și apoi la mezobilirubinogen. Acești pigmenți sînt incolori și se pot oxida la aer în urobiline (de culoare galben-oranj), care se elimină prin urină. Bilirubina este aceea care imprimă secreției biliare culoare caracteristică. Urobilina imprimă urinei culoarea galbenă. În intestin bilirubina este oxidată la stercobilinogen, care este hidrogenat la stercobilină, de culoare închisă. Aproape jumătate din urobilinogenul și stercobilinogenul rezultat sînt reabsorbiți și reexcretați de ficat în bilă, ca atare sau transformați din nou în bilirubină, constituind în acest fel ciclul enterohepatic al pigmenților biliari. Degradarea hemoglobinei și principalii ei metaboliți sînt redați în figura 10.48.

În fecale se află un amestec de urobiline și stercobilinogen, urobiline și stercobilina corespunzătoare. Așa se explică faptul că fecalele apar decolorate atunci cînd are loc o retenție biliară.

Destinația pigmenților biliari poate fi redată astfel:



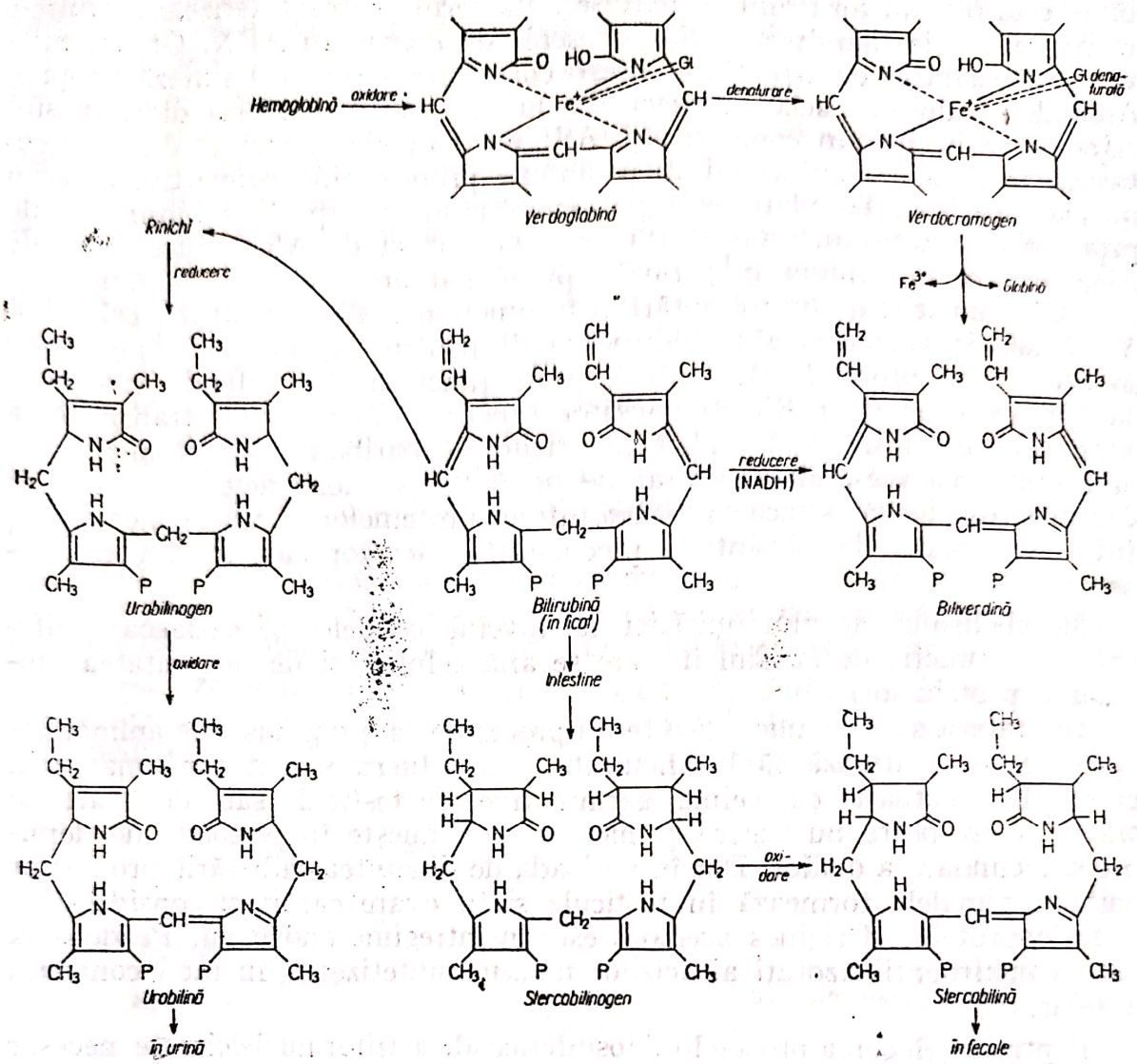
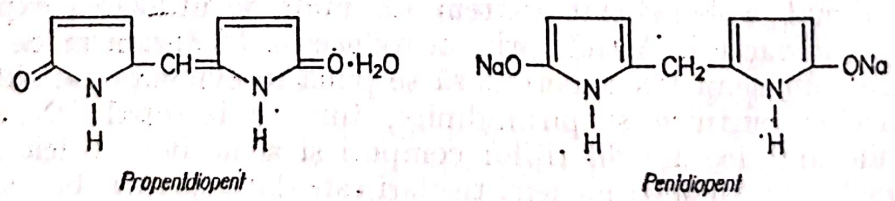


Fig. 10.48. Etapele catabolizării hemoglobinei.

În cazuri patologice, o parte din hem este degradat pînă la compuși dipirolici, cum sînt propentdiopent și pentdiopent, care se elimină prin urină.



10.6.4. METABOLISMUL ACIZILOR NUCLEICI

În organismele animale acizii nucleici liberi sau sub formă de nucleoproteide sînt constituenți ai nucleului celular. În cantitate mai mare ei se află în celulele în care are loc o biosinteză mai intensă de proteine, cum sînt ovocitele în curs de dezvoltare, celulele care se înmulțesc repede, celulele glandei sericicole ale viermelui de mătase (care sînt specializate în

Scanned with OKEN Scanner

biosinteza proteinelor firului de mătase). Bacteriile se caracterizează printr-o mare putere de înmulțire și sînt deosebit de bogate în ARN. Organismele vii au capacitatea de a-și reînnoi acești constituenți printr-o sinteză proprie. Animalele valorifică acizii nucleici din hrană, care în tractul digestiv sînt scindați hidrolitic în componente. Atît nucleotidele provenite din alimentație, cît și cele rezultate dintr-o sinteză proprie sînt convertite în acizi nucleici specifici. Totodată, este pe deplin lămurit faptul că biosinteza de proteine este totdeauna precedată de o biosinteză de ARN. Biosinteza de ADN are loc mai intens în perioada premergătoare diviziunii celulare.

Acizii nucleici au un rol hotărîtor în funcționarea și înmulțirea celulelor. Acizii deoxiribonucleici sînt indispensabili pentru exprimarea caracterelor ereditare prin procesele de sinteză și de funcționare a celulei. Se cunosc două mecanisme de realizare a acestor funcții, și anume: (1) transmiterea informației ereditare prin replicarea acizilor deoxiribonucleici cromozomiali cu transcrierea mesajului ereditar de pe ADN pe moleculele de mARN și (2) dirijarea de către acesta a biosintezei proteinelor. Ambele mecanisme sînt determinate de biosinteza precursorilor acizilor nucleici din componente.

Metabolismul acizilor nucleici la nivelul celulelor se desfășoară diferențiat, în funcție de stadiul în care se află celulele și de intensitatea biosintezei proteinelor.

Biosinteza acizilor nucleici este un proces pe care organismele animalelor superioare îl realizează fără dificultate. Acest lucru a fost confirmat prin cercetările efectuate cu celule germinative de testicule sau de ovare de somon. Acest pește nu ingeră și nici nu se hrănește în perioada de depunere și fecundare a ouălor. Dar în perioada de dinaintea eliberării produșilor genitali animalele formează în testicule și în ovare cantități considerabile de nucleoproteide. Originea acestora este în întregime endogenă. Pe de altă parte, constituenții azotați ai acizilor nucleici sintetizează în mod continuu proteine.

Pentru înțelegerea proceselor biosintetice ale acizilor nucleici este necesar ca mai întîi să se prezinte căile de formare a componentelor structurale.

10.6.4.1. BIOSINTEZA BAZELOR PURINICE ȘI PIRIMIDINICE

Studiul mecanismului biosintezei bazelor purinice și pirimidinice în organismul animal a beneficiat extrem de mult de utilizarea experiențelor cu compuși radioactivi. Astfel, prin introducerea în organism de săruri de amoniu care conțineau ^{15}N a permis să se pună în evidență rapiditatea biosintezei bazelor purinice și pirimidinice, întrucît izotopul ^{15}N s-a regăsit în funcțiunile aminice ale diferiților compuși și a acizilor nucleici. Încorporarea izotopului ^{15}N în acizi nucleici tisulari este slabă pentru bazele purinice și nulă pentru bazele pirimidinice, cînd compușii sînt administrați *per os* sau prin injectare.

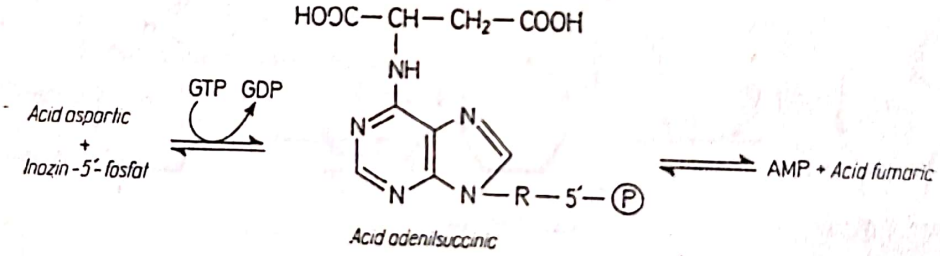
Biosinteza bazelor purinice. Cercetările recente au permis precizarea punctelor importante ale biosintezei ciclului purinic. Ele constau în izolarea și degradarea acidului uric din urina de porumbel după administrarea de compuși marcați cu ^{14}C și ^{15}N. Rezultatele cercetărilor au scos la iveală faptul că biosinteza compușilor purinici este un proces complex, la care participă: fosforibozilpirofosfat (PRPP), glutamină, glicocol, N-5-formil-THF și CO_2, precum și ATP. Prin experiențe cu serină marcată s-a demon-

strat că datorită reacției reversibile: serină $\rightleftharpoons$ glicocol + acid formic, în care serina constituie o formă instabilă și capabilă de a furniza azotul și cei doi atomi de carbon pentru a forma ciclul purinic, acidul acetic nu este un precursor al purinelor.

În formarea ciclului purinic construcția are loc din aproape în aproape, mai întîi se formează ciclul imidazolic, sub formă de amino-imidazol-ribozo-5'-fosfat. Reacția începe prin formarea de PRPP din ribozo-5'-fosfatul, rezultat din degradarea glucidelor, în prezență de ATP și a unei enzime specifice. PRPP fixează în continuare gruparea NH_2 amidică de la glutamină în prezența fosforibozil-pirofosfat amidotransferazei pentru a da naștere la 5'-fosforibozilamină. Aceasta din urmă se unește cu o moleculă de glicocol și formează glicinribozamin-5'-fosfat, care în prezență de N-5-formil-THF, de ATP și glutamină dă naștere la aminoimidazol-ribozo-5'-fosfat. În etapa următoare, în prezență de carboxibiotinenzimă, acid aspartic și ATP se formează inozin-5'-fosfat (IMP). Acidul inozinic constituie precursorul pentru adenină, guanină și nucleotidele lor. Procesul este redat în figura 10.49.

În formarea acidului guanilinic aminarea se realizează de către glutamină, care nu poate fi substituită de acid glutamic și nici de către asparagină. La bacterii însă, ionii de amoniu pot contribui la această reacție.

Biosinteza acidului adenilic dintr-o parte de acid inozinic se efectuează cu participarea acidului aspartic, care contribuie la formarea unui compus intermediar: acidul adenilsuccinic, de la care apoi rezultă AMP și acid succinic.



Sinteza *de novo* a nucleotidelor purinice reprezintă calea principală de formare a acestor compuși *in vivo*, dar pot fi utilizate și adenina și guanina libere ca precursori în biosinteza nucleotidelor și ARN.

Reglarea biosintezei bazelor purinice se realizează pe două căi: una, o retroinhibiție care se exercită asupra enzimei PRPP-aminotransferazei, de IMP și de alte nucleotide purinice. O altă retroinhibiție se exercită asupra etapelor terminale: AMP inhibă IMP-dehidrogenaza.

Bilanțul energetic pentru formarea unei molecule de acid inozinic este de nouă echivalenți de ATP în care este cuprins și ATP necesar pentru sinteza glutaminei și activării formiatului.

Biosinteza bazelor pirimidinice. Ca și pentru bazele purinice, biosinteza ciclului pirimidinic se realizează concomitent cu formarea nucleotidei uridilice sau citidilice și nu sub forma unei baze izolate. Ciclul de reacții începe cu formarea acidului carbamil-aspartic sau ureido-succinic, care poate fi realizat, *in vitro*, prin acțiunea unei aspartat-transcarbamilaze de origine hepatică. În organismele mamiferelor, biosinteza carbamil-fosfatului se realizează după reacția:

$$CO_2 + Glu—NH_2 + 2\ ATP \rightarrow H_2N—CO—OPO_3H_2 + 2\ ADP + Ⓟ$$

Scanned with OKEN Scanner

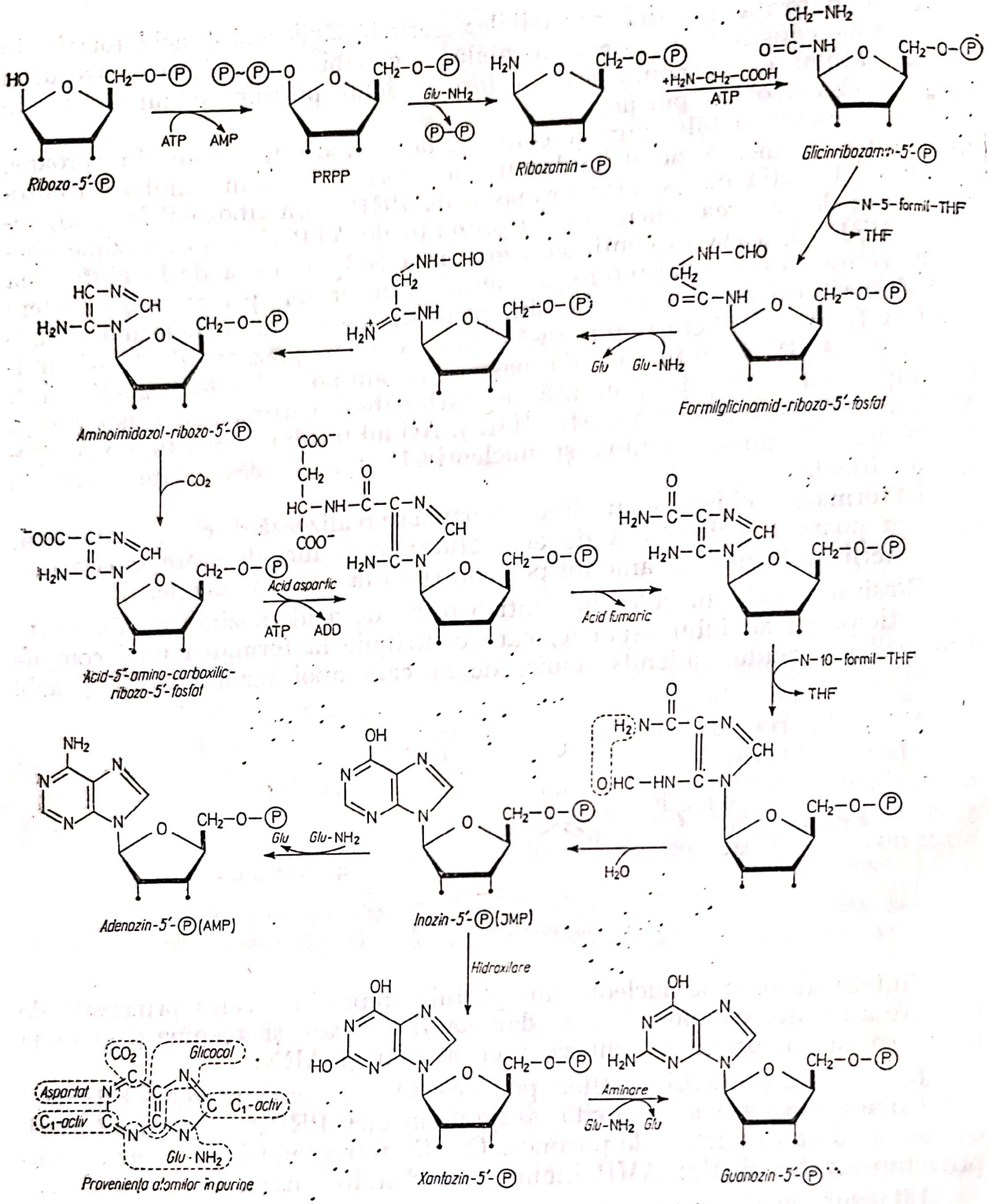


Fig. 10.49. Biosinteza bazelor purinice.

Etapele principale ale biosintezei bazelor pirimidinice sînt redate în figura 10.50.

Acidul orotic poate fi utilizat de organismele vii pentru formarea citozinei și uracilului. Trecerea acidului orotic în orotidin-5'-fosfat se realizează în prezența PRPP. Această reacție este catalizată de orotidin-5'-fosfat pirofosforilază. Maladia metabolică caracterizată prin tulburarea utilizării acidului orotic în etapele următoare biosintezei constă într-o acumulare de acid orotic și eliminarea lui prin urină.

Orotidin-5'-fosfat este decarboxilat de către orotidin-decarboxilază, în absența căreia se realizează o acumulare de orotidin-fosfat. Uridinfosfatul

Scanned with OKEN Scanner

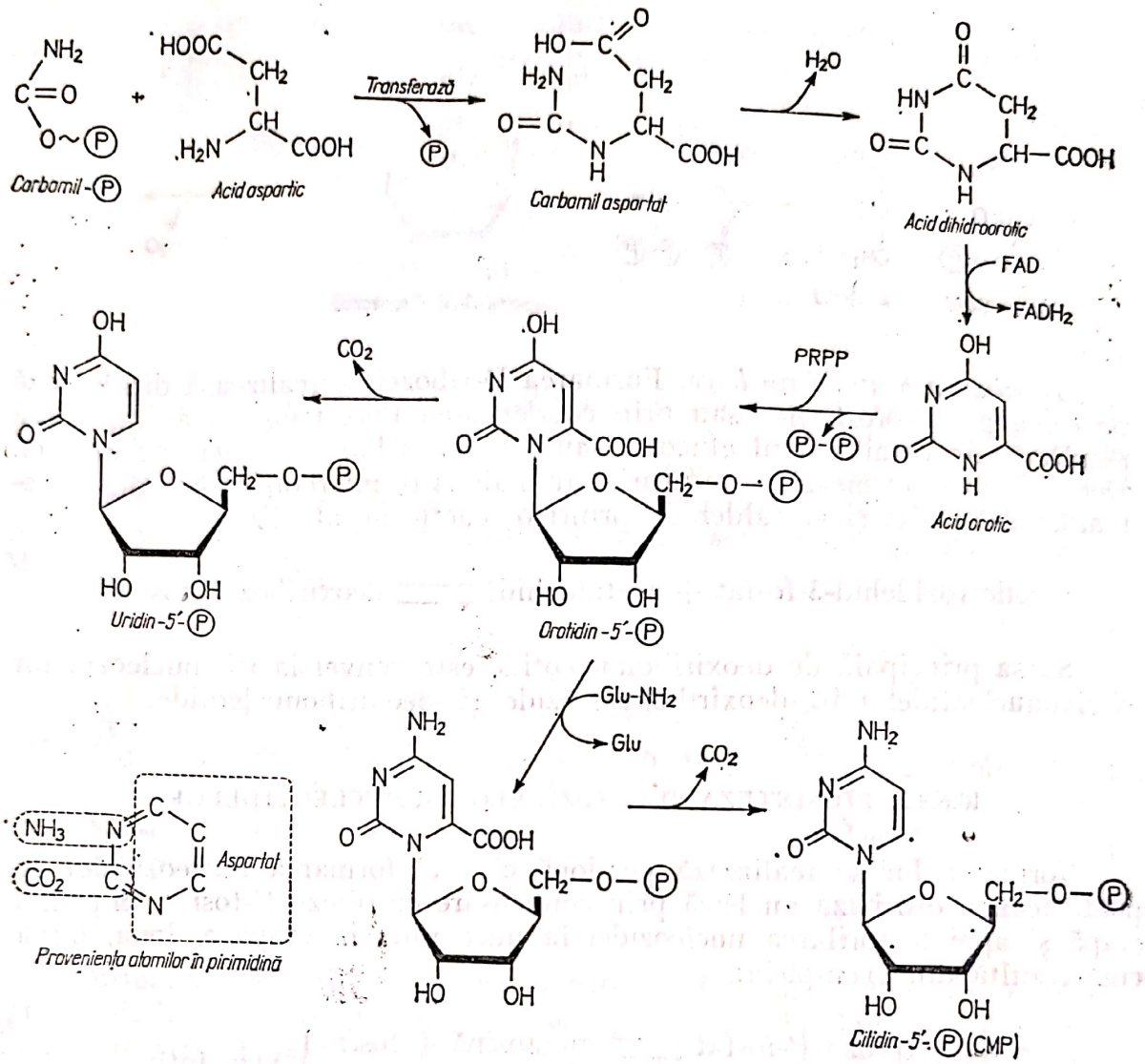


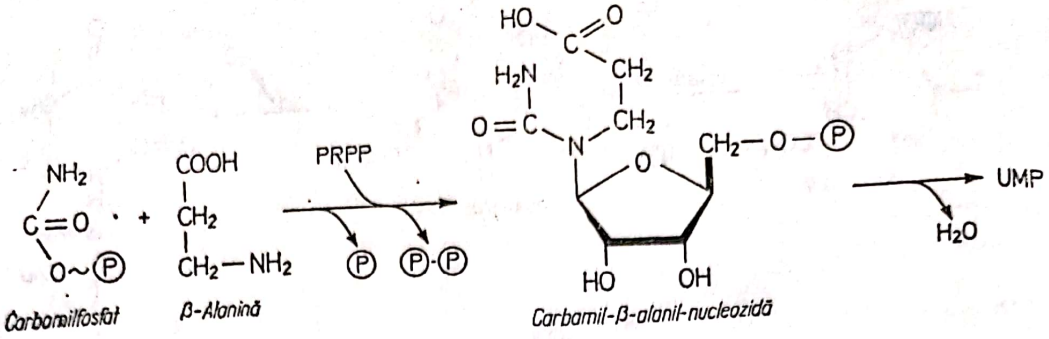
Fig. 10.50. Biosinteza bazelor pirimidinice.

care rezultă prin decarboxilarea orotidin-fosfatului poate fi fosforilat în prezența ATP și să rezulte UTP, care poate fixa pe ciclul pirimidinic o grupare amino de la amoniac sau de la glutamină și să dea naștere la CTP.

Ca și pentru alți constituenți celulari, controlul biosintezei bazelor pirimidinice se efectuează printr-un mecanism de retrocontrol sau retroacțiune negativă. Acest mecanism constă într-o inhibare a enzimei reglatoare (în general din prima secvență) din suita de reacții biosintetice prin produsul final al reacției. De asemenea, CTP inhibă aspartat-transcarbamilaza. Acest produs servește ca model în analiza mecanismului de reglare prin retrocontrol negativ. Reglarea la animale se realizează la nivelul carbamil-fosfat-sintetazei, care este inhibată de UTP și CTP.

În organismul animalelor superioare și în microorganisme este posibilă și o altă cale biosintetică, în care precursorii sînt carbamilfosfat, β-alanină și fosforibozilpirofosfat (PRPP). Intermediar rezultă carbamil-β-alaninribonucleotida, care apoi, prin închiderea ciclului și dehidrogenare, duce la uridin-5'-fosfat.

Scanned with OKEN Scanner



Biosinteza pentozei nucleice. Formarea D-ribozei se realizează din hexoză pe calea pentozofosfaților sau prin condensarea unei trioze și acetaldehidă rezultate din catabolismul glucozei sau prin decarboxilarea acizilor uronici. Deoxiriboza se formează în țesuturile animale și în microorganisme din gliceroaldehid-3-fosfat și acetaldehidă printr-o reacție de aldolizare:

$$\text{Gliceroaldehid-3-fosfat} + \text{acetaldehidă} \rightleftharpoons \text{deoxiriboz-5'-fosfat}$$

Sursa principală de deoxiribonucleotide este conversia ribonucleozidelor și ribonucleotidelor în deoxiribonucleozide și deoxiribonucleotide.

10.6.4.2. BIOSINTEZA NUCLEOZIDELOR ȘI NUCLEOTIDELOR

Formarea lor se realizează pe două căi: a) formarea nucleozidelor se poate realiza din baza nucleică prin condensare cu ribozo-1'-fosfat, în prima etapă și apoi fosforilarea nucleozidei la nucleotidă în etapa a doua, după cum rezultă din exemplele:

$$\left.\begin{array}{l}\text{guanină} + \text{ribozo-1'-fosfat} \rightleftharpoons \text{guanozină} + \text{fosfat} \\ \text{uracil} + \text{ribozo-1'-fosfat} \rightleftharpoons \text{uridină} + \text{fosfat}\end{array}\right\} \text{faza întîi}$$

$$\text{guanozină} + \text{ATP} \xrightarrow[\text{kinază}]{\text{adenozin-}} \text{guanozin-fosfat} + \text{ADP}] \text{ faza a doua}$$

b) Fixarea bazei nucleice de fosforibozil cu intervenția PRPP și a enzimei specifice după următoarea reacție:

$$\text{PRPP} + \text{adenină} \rightarrow \text{AMP} + \text{PP}$$

$$\text{PRPP} + \text{guanină} \rightarrow \text{GMP} + \text{PP}$$

Biosinteza nucleozid-5'-polifosfaților se realizează prin reacții de transfosforilare:

$$\text{ATP} + \text{UDP} \rightleftharpoons \text{ADP} + \text{UTP}$$

$$\text{UMP} + \text{ATP} \rightleftharpoons \text{UDP} + \text{ADP}$$

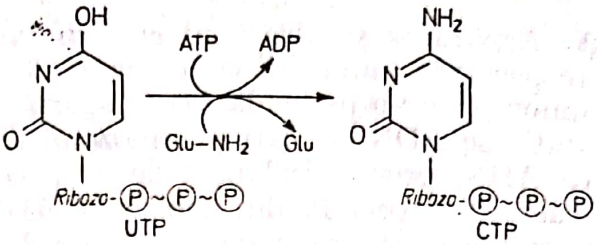
$$\text{AMP} + \text{UTP} \rightleftharpoons \text{ADP} + \text{UDP}$$

$$\text{GMP} + \text{ATP} \rightleftharpoons \text{GDP} + \text{ADP}$$

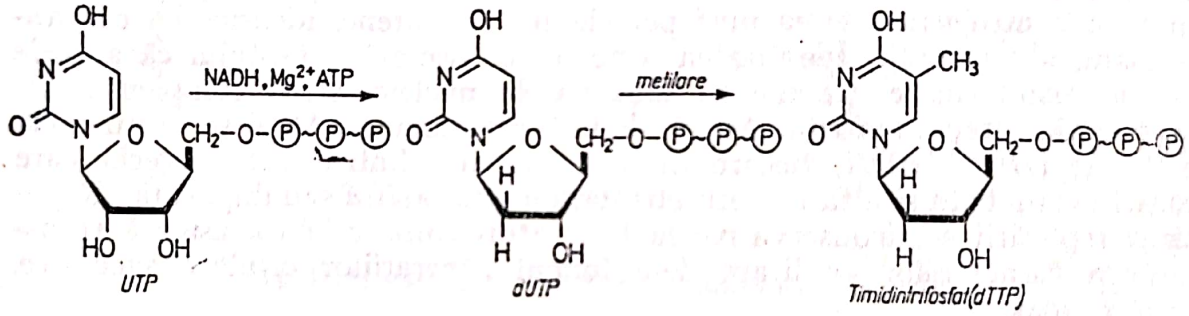
$$2\ \text{GDP} \rightleftharpoons \text{GTP} + \text{GMP}$$

Scanned with OKEN Scanner

Aceste reacţii sînt catalizate de fosfokinaze, iar transfosforilarea are loc printr-un proces de aminare cu amoniac sau cu glutamină:



În formarea timidin-5'-trifosfatului deoxiribozei se pleacă de la UTP şi are loc un proces de metilare a bazei nucleice şi de reducere a ribozei în deoxiriboză. Aceste reacţii au loc atît la nivelul nucleotidei monofosforilate, cît şi a celei trifosforilate. Hidrogenarea se realizează prin participarea de NADH, iar metilarea este realizată de către acid N-10-hidroximetil-THF, Mg^{2+} şi vitamina B_{12}:



Formarea deoxiribocitidintrifosfatului (CTP) se realizează printr-un proces de hidrogenare analog cu cel arătat la TTP, iar hidrogenarea ribozei la deoxiriboză poate avea loc şi la nivelul ribonucleotid-difosfaţilor.

Rolul biochimic al nucleotidelor pirimidinice şi purinice mono- şi polifosforilate. Multe dintre nucleotidele pirimidinice şi purinice fosforilate acţionează ca şi coenzime. Dintre acestea mai importante sînt coenzimele dinucleotidice (NAD^+, $NADP^+$ şi FAD). Adenozin-5'-fosfatul se află şi în structura coenzimei A. Legarea nucleotidelor monofosforilate sau polifosforilate de compuşi rezultaţi în decursul metabolismului duce la activarea acestora, ceea ce face posibilă metabolizarea lor în continuare. Aşa, de exemplu, în catabolizarea glucozei un rol însemnat îi revine UDP-glucozei, iar în catabolismul lipidelor complexe CDP-colinei. De asemenea, metionina este capabilă de a ceda CH_3 numai sub formă de S-adenozil-metionină.

10.6.4.3. BIOSINTEZA ACIZILOR NUCLEICI

Precursorii acizilor nucleici sînt constituenţi ai organismului, cu structură simplă, care se formează în cadrul celulelor. Poate avea loc încorporarea şi de fragmente de natură exogenă. Astfel, în cercetările efectuate cu adenină la şoareci adulţi s-a constatat formarea de acizi ribonucleici. Bazele pirimidinice nu sînt încorporate în condiţii deosebite, cînd creşterea este rapidă şi concentraţia totală a pirimidinelor este foarte ridicată. Nucleozidele sînt utilizate în aceeaşi măsură, dar numai în cazuri rare.

Scanned with OKEN Scanner

Precursorii imediați în biosinteza ARN și ADN sînt nucleozid-5'-fosfații prezenți în stare liberă în nucleul celular. Enzimele capabile de biosinteza acizilor nucleici macromoleculari sînt ADN și ARN-nucleotidil-transferaze.

Biosinteza ADN. *Replicarea și caracterul ei semiconservativ.* Biosinteza ADN se desfășoară în perioada înmulțirii celulelor, cînd are loc procesul de duplicare a cromozomilor și într-o perioadă foarte scurtă din existența celulelor. Dublarea cantității de ADN de către cromozomi începe prin despiralarea dublei catene de ADN, proces declanșat de o moleculă inițiatoare eliberată de o genă structurală specială din molecula ADN. Inițiatorul este de natură enzimatică și are capacitatea de a produce despiralarea dublului lanț ADN prin rotirea acestuia. În faza de formare a celulei, în așa-numitul proces mitotic, prin interacțiunea dintre histone și proteinele reziduale, filamentele de ADN se compactizează în structuri cromozomiale distincte, astfel că ambele celule care iau naștere primesc o garnitură completă de cromozomi identici cu cea din celula din care s-au format. În formarea unor molecule identice de ADN are loc așa-numitul mecanism semiconservativ de replicare. Aceasta înseamnă că biosinteza începe prin despiralarea ADN dublu-catenar cromozomial, ambele catene separate pot constitui matriță pentru sintetizarea unei perechi noi de catene, identice cu cea anterioară, abandonată. Identitatea este o consecință a faptului că ambele catene nou-formate trebuie să aibă bazele nucleice strict complementare cu cele ale catenei matriță. Astfel, de la o moleculă de ADN se obțin două molecule noi de ADN, fiecare fiind constituită dintr-o catenă veche, care constituie matrița și alta nou-sintetizată, numită *replică* sau duplicată. Repetarea replicării semiconservative la fiecare diviziune celulară asigură transmiterea caracterelor ereditare de-a lungul generațiilor celulare succesive, prin mitoză.

Mecanismul replicării semiconservative. Procesul de replicare sau de formare a catenelor de ADN constă într-o despiralare și desfacere a dublei catene sub acțiunea unei enzime specifice. Fiecare catenă constituie un tipar sau o matriță pentru biosinteza unei noi catene polinucleotidice de ADN, care este complementară celei ce a servit ca matriță. Mononucleotidele care urmează a fi policondensate necesită a fi activate, fapt ce se realizează prin trecerea lor sub formă de nucleotide polifosforilate. Diferitele deoxinucleotide trifosforilate care se află la locul de biosinteză se fixează pe catena matriță de ADN și se leagă prin legături de hidrogen, respectînd însă principiul complementarității bazelor nucleice, așa cum rezultă din figura 10.51.

Sinteza de ADN în prezența deoxinucleotidiltransferazei (ADN-nucleotidiltransferază) are loc numai într-un mediu ionic adecvat ce conține ioni de Mg^{2+}, în prezența pirofosfatazei și a unei cantități mici de ADN macromolecular, cu rol de inițiator sau de matriță în formarea lanțului nou de ADN. Procesul biochimic global poate fi redat prin următoarea ecuație:

$$\text{ADN} + n(\text{dTTP} + \text{dGTP} + \text{dCTP} + \text{dATP}) \rightleftharpoons$$
$$\rightleftharpoons \text{ADN} - (\text{dTMP} - \text{dGMP} - \text{dCMP} - \text{dAMP})_n + 4n\text{Ⓟ} - \text{Ⓟ}$$

Sinteza catenei polinucleotidice se realizează de la capătul 3' spre capătul 5' al catenei. Condensarea monodeoxiribonucleotidtrifosfaților se realizează succesiv prin legături de hidrogen ale bazelor nucleice ale acestora de bazele nucleice complementare ale ADN inițiator. Apoi se stabilește legătura 5',

Scanned with OKEN Scanner

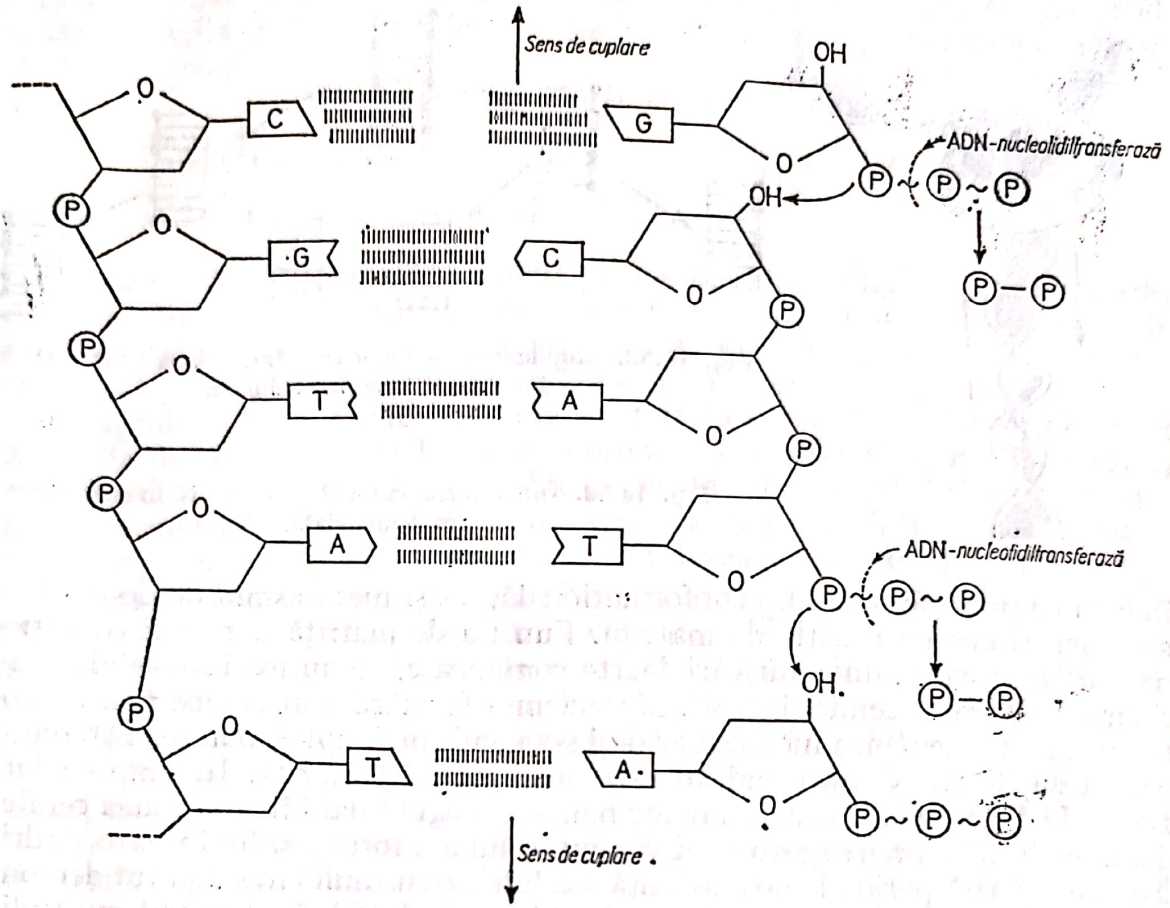


Fig. 10.51. Mecanismul replicării semiconservative a ADN.

ß'-fosfodiesterică și se elimină o moleculă de pirofosfat. Hidroliza pirofosfatului la acid ortofosforic sub acțiunea pirofosfatazei, furnizează energia necesară procesului de condensare a mononucleotidtrifosfaților și formarea de legături fosfodiesterice. Pentru fiecare nucleotidă introdusă în catena polinucleotidică se consumă două legături macroergice, adică circa 14 kcal/mol. În cazul cînd lipsește pirofosfataza, reacția de biosinteză este inhibată de pirofosfatul acumulat. Totodată, în lipsa uneia din mononucleotidele necesare se oprește biosinteza catenei polinucleotidice complementare de ADN. Procesul de replicare semiconservativ este reglat de activitatea enzimei care despiralează dublul helix de ADN. Întrucît fiecare catenă de ADN din dublul helix despiralat constituie o matriță în biosinteza unei noi catene de ADN se poate realiza o replicare de ADN cu formarea a două macromolecule de ADN dublu catenar, din care o catenă provine din ADN preexistent. Deoxiribonucleotidiltransferaza care realizează replicarea semiconservativă are rolul de a înfășura dubla catenă de ADN după cum reiese din figura 10.52. Pentru confirmarea procesului de replicare semiconservativă s-au efectuat cercetări *in vivo* cu baze nucleice marcate cu ^{15}N, în care bacteriile au fost cultivate mai întîi pe un mediu ce conținea ^{15}N și apoi transplantate pe un mediu ce conținea ^{14}N. S-a constatat că în prima generație după transplantare una din catene conținea ^{15}N, iar cea de-a doua catenă conținea ^{14}N. La generația a doua după replantare două molecule au o catenă cu ^{15}N și alta nemarcată, iar două molecule conțin numai ^{14}N (fig. 10.53).

Privitor la biosinteza acizilor deoxiribonucleici, deși s-au obținut succese însemnate, încă nu este rezolvată pe deplin. Problema este complexă atît

Scanned with OKEN Scanner

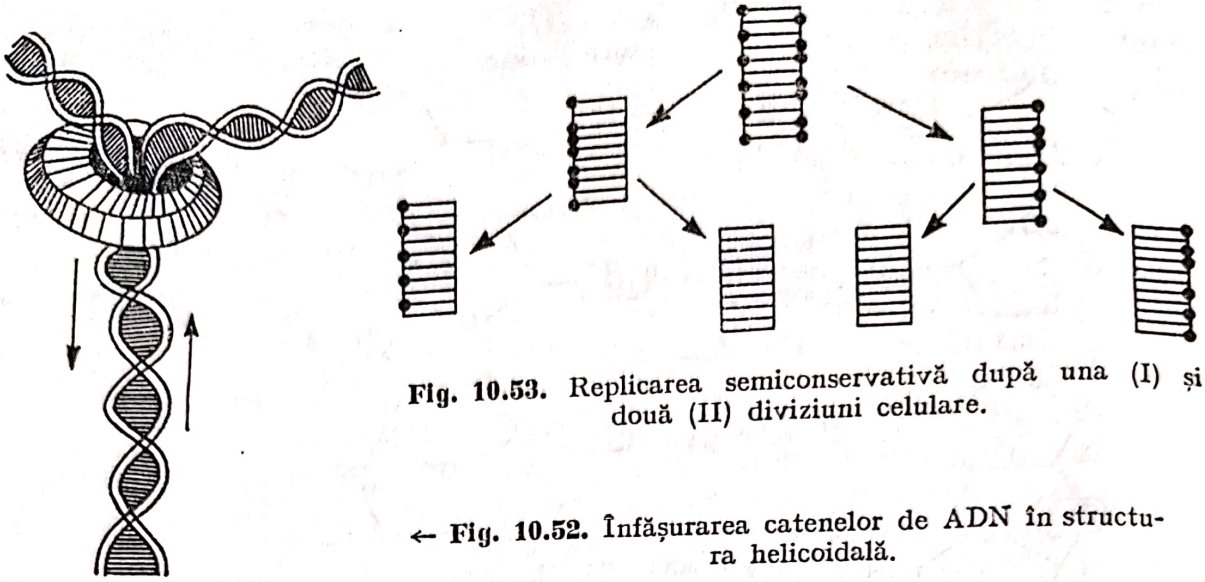


Fig. 10.53. Replicarea semiconservativă după una (I) și două (II) diviziuni celulare.

← **Fig. 10.52.** Înfășurarea catenelor de ADN în structura helicoidală.

în ceea ce privește structura conformațională, cît și mecanismul de despiralare a dublei catene cu funcție de matriță. Funcția de matriță pare a fi condiționată de efectuarea unor mișcări foarte complicate, ce au loc intracelular sau chiar o mișcare a celulei întregi. Mecanismul formării noii catene polinucleotidice este de asemenea încă neclar deși s-au emis mai multe ipoteze. Totodată, biosinteza de ADN mitocondrial este doar parțial lămurită. În timp ce formarea de ADN în cromozomi are loc numai o singură dată în viața unei celule, și anume în faza premergătoare diviziunii celulare, formarea lui în mitocondrii decurge în toată perioada de existență a celulei. În ultimii ani s-a putut demonstra faptul că se pot forma acizi nucleici hibrizi. Astfel, în decursul multiplicării ARN la virusurile oncogene s-a izolat o structură hibridă ARN/ADN. În aceste sisteme, un ARN poate servi ca matriță pentru biosinteza ADN. Aceasta este o inversare matriceală în raport cu schema clasică (ADN→ARN→ →proteine) a mecanismelor de transcripție și traducere. Acest proces biosintetic este catalizat de un sistem enzimatic deosebit, format din ADN-nucleotidtransferază-ARN-dependentă sau transcriptază inversă. Enzima a fost identificată la multiplicarea virusului Rauscher, în sarcomul Rous și pentru o serie întreagă de virusuri ai leucozelor, sarcoamelor sau tumorilor mamare. Enzima funcționează în prezența Mn^{2+} sau Mg^{2+}. Produsul format (hibrid de ARN viral și de ADN nou-sintetizat) poate servi în continuare de matrice pentru sinteza unui ADN care se desfășoară după mecanismul arătat.

Biosinteza ARN. Astăzi este binecunoscut faptul că în celulele în care are loc un metabolism intens al proteidelor se mărește mult suprafața activă a anumitor segmente de pe cromozomi, care sintetizează și trimit în citoplasmă cantități considerabile de *m*ARN. Mecanismul biosintezei de *m*ARN începe prin despiralarea segmentelor de pe cromozomi din celula de ADN și în prezența ARN-nucleotidiltransferazei. Succesiunea de baze nucleice din catena de ADN este transcrisă în structura monocatenară de *m*ARN, a cărui codoni constituie matriță în sinteza unei anumite proteine.

Formarea de *m*ARN are loc în nucleul celular, iar spira acestui acid ribonucleic este relativ simplă. Mecanismul biosintetic este asemănător celui de formare sub formă de nucleotidtrifosfați, iar ordinea de înșirare a nucleotidelor este dictată de anumite porțiuni ale uneia din catenele de ADN dublu catenar. Enzima specifică ce realizează transcrierea este ARN-nucleotidiltransferaza, care este activă numai în prezența ionilor de Mg^{2+} sau Mn^{2+}.

Scanned with OKEN Scanner

Această enzimă parcurge catena de ADN de la capătul 3′ spre 5′, alcătuind un lanț de ARN antiparalel (5′—3′). Procesul poate fi reprezentat global prin reacții de tipul:

$$\text{ADN} + n(\text{ATP} + \text{GTP} + \text{CTP} + \text{UTP}) \rightarrow$$
$$\rightarrow \text{ADN} + \underbrace{(\text{AMP}-\text{GMP}-\text{CMP}-\text{UMP})_n}_{m\text{ARN}} + 4\text{n}\ \text{Ⓟ} - \text{Ⓟ}$$

Procesul biosintetic este inhibat de histone, care împiedică despiralarea ADN matriță, dar este stimulat de diferite poliamine și hormoni. Aceste substanțe înlătură blocajul histonei represoare. Fiecare specie de *m*ARN este sintetizat pe un anumit segment de ADN cromozomial.

Faptul că *t*ARN bacterian de la o anumită specie poate forma hibrizi cu ADN de la alte specii de bacterii confirmă concepția că *t*ARN al aceluiași aminoacid are o structură asemănătoare la diferite specii, *t*ARN se formează avînd ca matriță ADN. Genele structurale ale ADN intră în activitate numai atunci cînd genele operatoare care le controlează activitatea lor sînt eliberate din blocajul în care se află în mod obișnuit. Eliberarea o poate provoca substratul unei reacții enzimatice, în care caz *m*ARN sintetizat va comanda producerea enzimei respective. De asemenea, anumiți hormoni îndeplinesc rol de inductori enzimatici în anumite țesuturi ale organismelor mamiferelor.

Biosinteza ARN în celulele animale. Se știe că, cantitatea de ADN din nucleu diploid este aceeași în toate celulele aceluiași animal. Totuși, în diferite tipuri de celule numai o fracțiune de ADN (2—3%) care diferă de la o celulă la alta, se exprimă în sinteza de *m*ARN și în sinteza de proteine. Acest fapt determină specificitatea celulară a diverselor organe. Cunoașterea mecanismului prin care anumite gene sînt inactivate temporar într-o celulă și activate în altele este încă la început. Numeroase date vin să arate că în cursul regenerării organelor după amputare parțială se află sub efectul hormonilor, determinînd o stimulare a biosintezei ARN-nucleotidtransferazei sau o mai bună derepresie a unei fracțiuni de ARN, asigurînd sinteza care pînă atunci era reprimată. Nucleolul joacă un rol important în sinteza de ARN-ribozomic și probabil de *t*ARN; distrugerea lui blochează o parte foarte importantă din sinteza de ARN celular și cvasitotalitatea ARN ribozomial. Existența în citoplasma celulelor animale a enzimelor susceptibile să asigure replicarea de ARN a fost postulată, dar încă n-a fost confirmată. Enzimele au fost puse în evidență în microorganisme. Biosinteza de acizi poli-adenilic și poli-citidilic pun probleme care rămîn încă nerezolvate. Enzimele care sintetizează acești acizi nucleici homopolimeri au fost puse în evidență în celulele bacteriene și în celulele mamiferelor. La animale, îndeosebi în nuclee, acești homopolimeri joacă un rol de rezervă de nucleotide mobilizabile în calea sintezei de ARN.

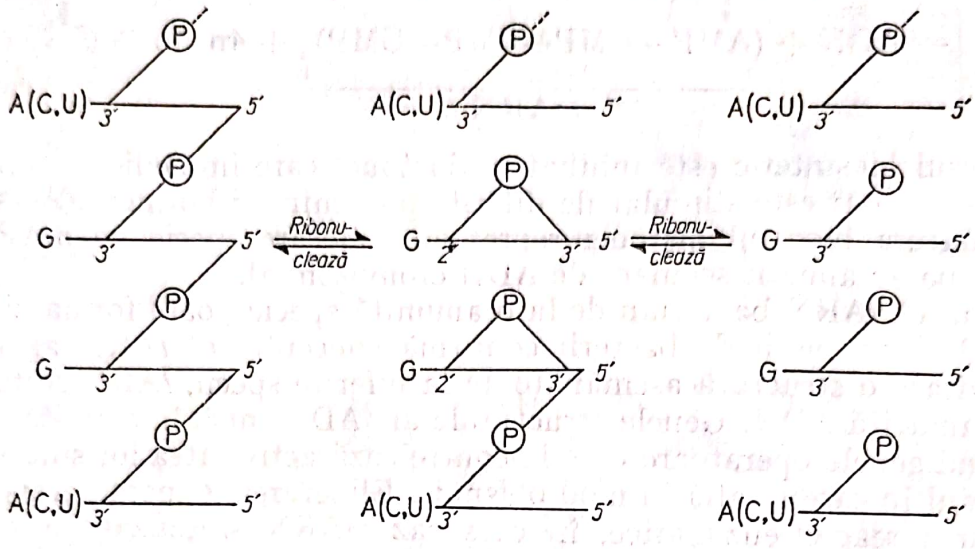
10.6.4.4. CATABOLISMUL ACIZILOR NUCLEICI

În toate țesuturile animale, în plante și în microorganisme se află enzime, numite nucleaze, capabile de a hidroliza acizii nucleici. Se disting două grupe de nucleaze: fosfodiesteraze, care sînt exonucleaze și nucleodepolimeraze, care sînt endonucleaze. Cele din urmă se împart în două subclase: ribonucleaze (RN-aze) și deoxiribonucleaze (DN-aze). Ele sînt prezente mai ales în sucul pancreatic.

Ribonucleazele hidrolizează acizii ribonucleici în mono- și oligonucleotide (de tip 3′-fosfat), deoarece desfac numai legăturile 3′, 5′—fosfodiesterice și

Scanned with OKEN Scanner

lasă legat acidul fosforic de HO din poziția 3′ a unuia din resturile de riboză. Ribonucleazele pancreatice eliberează în primele faze mononucleotide pirimidinice ciclice sau oligonucleotide avînd o nucleotidă pirimidinică ciclică



terminală și lăsînd un rest bogat în nucleotide purinice. În a doua etapă, nucleotidele ciclice sînt hidrolizate la nucleozid-3′-fosfați.

Deoxiribonucleazele izolate din pancreas hidrolizează ADN la oligonucleotide și nucleotide de tip 5′-fosfat.

Fosfodiesterazele atacă ribo- și deoxiribonucleotidele prin scindarea la legăturile fosfodiesterice. Astfel, fosfodiesteraza din mucoasa intestinală eliberează nucleozid-5′-fosfați.

Nucleotidazele acționează asupra nucleozidelor scindînd fosforolitic atît ribo-, cît și deoxiribonucleozidele:

$$\text{guanozină} + \text{fosfat} \rightleftharpoons \text{guanină} + \text{ribozo-1′-fosfat}$$

$$\text{uridină} + \text{fosfat} \rightleftharpoons \text{uracil} + \text{ribozo-1′-fosfat}$$

$$\text{deoxiguanozină} + \text{fosfat} \rightleftharpoons \text{guanină} + \text{deoxiribozo-1′-fosfat}$$

Pentozofosfații rezultați sînt catabolizați pe calea pentozofosfaților.

Catabolismul bazelor purinice. Animalele excretă aproape în totalitate bazele purinice ingerate, la nivelul rinichiului, sub formă de acid uric. Acidul uric poate fi deci considerat ca ultimul termen al metabolismului purinic la om și la unele animale. Formarea lui din purine comportă intervenția diverselor enzime specifice și anume a unor dehidrogenaze.

Deaminarea bazelor purinice. Bazele purinice sînt adenina și guanina. Deaminarea lor are loc totdeauna printr-un mecanism hidrolitic: $R—NH_2 + H_2O \rightarrow R—OH + NH_3$, ceea ce duce la hidroxipurina corespunzătoare și anume la hipoxantină în cazul adeninei și la xantină în cazul guaninei. Această reacție este responsabilă în parte de amoniogeneza în cursul autolizei țesuturilor.

Oxidarea bazelor purinice. Deaminarea realizată de deaminaze este urmată de o oxidare sub acțiunea unei dehidrogenaze specifice care transformă hipoxantina și xantina în acid uric. Această enzimă, numită xantin-oxidază și mai puțin xantin-dehidrogenază (enzima Schardinger) are ca grupare pros-

Scanned with OKEN Scanner

tetică un rest de riboflavină și este prezentă din abundență în ficat, rinichi, intestin și lapte. Ea oxidează purinele în prezență de oxigen cu formare de H_2O_2. La om și la maimuțe, acidul uric format este eliminat la nivelul rinichilor. O parte mică de acid uric poate fi degradat. La alte mamifere, la intervenția unei oxidaze specifice, *uricaza*, transformă acidul uric în alantoină. Această reacție comportă deschiderea ciclului pirimidinic cu eliminare de CO_2.

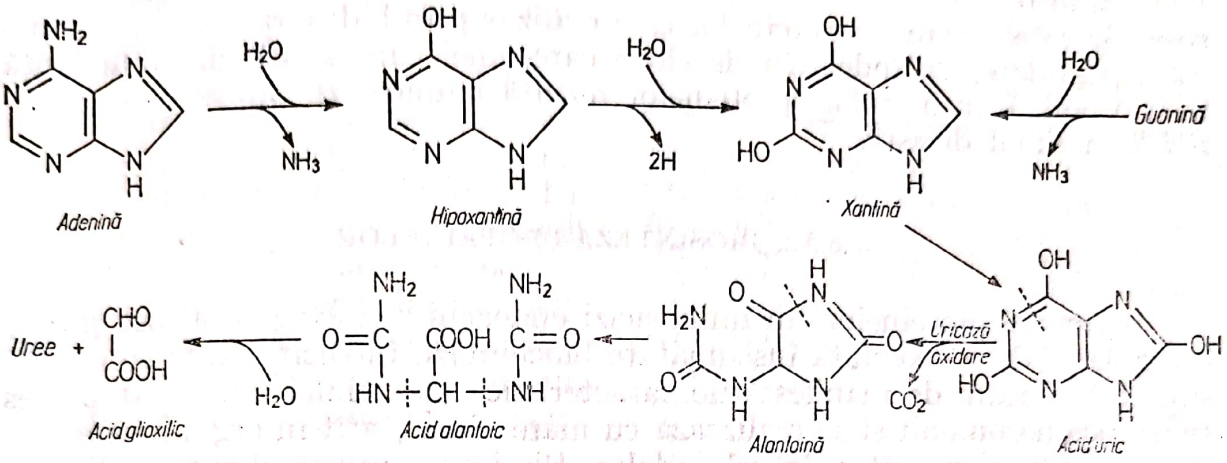


Fig. 10.54. Catabolizarea bazelor nucleice purinice.

În regnul vegetal, mai ales leguminoasele, convertesc alantoina în acid alontoic. Bacteriile pot scinda acidul alantoic în uree și acid glioxilic. Succesiunea reacțiilor de catabolizare sînt redate în figura 10.54.

La crustacei, sub acțiunea ureazei, catabolizarea continuă pînă la ultimul stadiu, de amoniac. La reptile și la viermi, metabolismul bazelor purinice este mai complex decît la mamifere.

Catabolismul bazelor pirimidinice. Compușii pirimidinici sînt degradați mai ales în ficat după schema generală dată în figura 10.55.

Prin administrare de uracil la șobolani s-a constatat formarea de β-alanină și de carbamil-β-alanină (acid β-carbamil-aminopropionic), în timp ce timina dă naștere la acid β-carbamil-amino-izobutiric și acid β-amino-izobutiric, care se găsește în urină. De asemenea, s-a constatat, cu ajutorul compușilor marcați ^{15}N și ^{14}C, că produșii finali ai catabolismului pirimidinelor sînt ureea, CO_2 și NH_3.

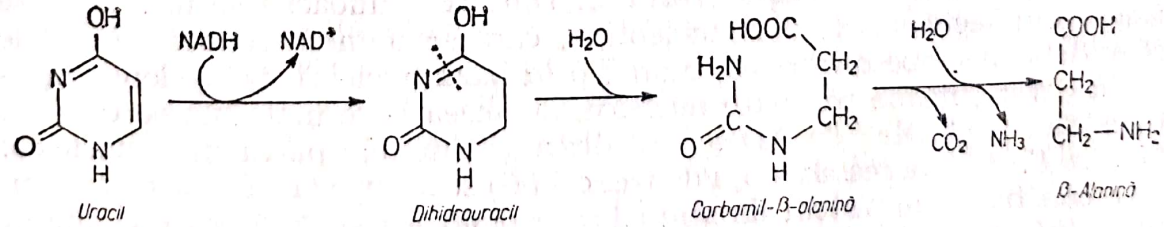


Fig. 10.55. Catabolizarea bazelor nucleice pirimidinice.

10.6.5. METABOLISMUL PROTEINELOR

Unitățile structurale ale proteinelor sînt aminoacizii, care pot fi sintetizați direct din compuși anorganici numai de către plante și de către unele microorganisme. Animalele nu pot realiza această sinteză, ci trebuie să-și procure proteinele din alimente. Animalele pot sintetiza proteine, în fiecare țesut sau

organ, cu excepția proteinelor plasmatice, care sînt sintetizate în ficat și în sistemul reticuloendotelial.

10.6.5.1. CATABOLISMUL PROTEINELOR

Proteinele din organismele animale sînt într-o continuă degradare și reînnoire ca urmare a unui schimb continuu de aminoacizi cu mediul extern. Procesul de catabolizare a proteinelor este realizat prin hidroliză de către numeroase peptidaze, dar îndeosebi de către catepsine, care se află din abundență în lizozomi. Prin hidroliza proteinelor rezultă aminoacizi, proces ce se realizează în tubul digestiv.

10.6.5.2. BIOSINTEZA PROTEINELOR

Formarea proteinelor din aminioacizi endogeni sau exogeni a fost și este o problemă de o deosebită însemnătate biochimică, întrucît aceste substanțe sînt strîns legate de manifestările caracteristice ale celulei vii. Acest proces se petrece necontenit și se realizează cu mare viteză, atît în organismele animalelor în creștere, cît și în cele adulte. Biosinteza proteinelor se realizează numai din aminoacizi liberi: polipeptidele rezultate prin hidroliza proteinelor nu pot fi încorporate în proteinele nou-sintetizate. Procesul biosintetic este mai intens în țesuturile și organele care posedă metabolism mai intens, cum sînt, de exemplu, ficatul, pancreasul și mucoasa intestinului subțire. Multă vreme s-a considerat că biosinteza proteinelor este o inversare a hidrolizei lor. În ultimii ani s-au adus dovezi că procesul de biosinteză este mult mai complicat decît procesul de catabolism. Aceste progrese au fost stimulate de descoperirea genelor, care sînt segmente din molecula de ADN cromozomial și îndeplinesc funcții deosebit de importante în transmiterea caracterelor ereditare. Fiecare genă determină sintetizarea unei anumite proteine de către sistemul complex proteinsintetizant al celulei. Biosinteza unei singure catene polipeptidice este comandată de către *cistroni* care sînt diviziuni ale genei, iar genele policistronice dictează biosinteza unui grup de proteine, cum sînt proteinele cu rol multienzimatic. Secvența precisă a aminoacizilor într-o proteină este indicată de succesiunea bazelor nucleice de pe o catenă a dublului helix de ADN cromozomial, adică de așa-numitul cod genetic.

Codul genetic și informația ereditară. Diferiți aminoacizi se înșiră sau se codifică prin secvențe de trei nucleotide, care se numesc codoni. Diferitele nucleotide se deosebesc între ele numai prin baza nucleică, iar codonii corespund la o secvență de trei baze nucleice, de aceea ei se mai numesc triplete. Codonii sau tripletele de ADN sînt alcătuiți din cele patru baze nucleice: *A*, *G*, *C* și *T*. Prin luarea acestora de trei ori (4^3) se ajunge la cifra de 64 codoni. Acesta constituie un sistem de semnalizare biologică și de aceea este numit codonul informației ereditare; el constituie mijlocul de transmitere al mesajului ereditar de la o generație la alta. Codul genetic oferă posibilitatea ca fiecare aminoacid să fie codificat prin două sau chiar mai multe triplete sinonime, dar avînd în general primele două baze nucleice identice și numai ultima diferită. Acest fapt arată că fiecare triplet corespunde unui anumit aminoacid, care este înșirat în catena polipeptidică a proteinei exact în ordinea în care se succed tripletele lor în catena ADN. Schimbarea unei nucleotide într-un codon poate imprima capacitatea lui de a codifica alt aminoacid. Exemplul unui astfel de proces este formarea hemoglobinelor anormale. O astfel de

Scanned with OKEN Scanner

mutație simplă stă la originea anemiei falciforme, caracterizată prin producerea unei hemoglobine *S*, care diferă de hemoglobina normală prin substituirea unui rest de acid glutamic cu altul de valină în catena polipeptidică.

Principalii codoni și aminoacizi pe care îi codifică sînt redați în tabelul 10.4.

Codul genetic formulat mai întîi ca o ipoteză este astăzi confirmat experimental și a fost descifrată semnificația celor 64 de codoni teoretic posibili. Prin utilizarea unui acid poliuridilic artificial (UUUU...), îndeplinind rolul de *m*ARN, s-a putut obține o polipeptidă constituită numai din fenilalanină. De asemenea, s-a constatat că, codonul AAA codifică lizina, iar CCC codifică prolina. Din anul 1966 încoace s-au adus dovezi experimentale ipotezelor inițiale, și anume că: codonii sînt triplete de baze nucleice; un triplet codifică un singur aminoacid bine determinat; codonul este universal valabil în lumea vie; codonii sînt asemănători pentru aminoacizi înrudiți, și altele. Se cunosc și codoni degenerați ai informației ereditare, cum sînt: CC—U, CC—G etc. Împerecherea codon-anticodon trebuie să fie totdeauna complementară în cazul primelor două baze nucleice. De asemenea, se cunosc codoni „nonsens", cum sînt: UGA, UAA, UAG, care nu codifică nici un aminoacid.

Tabelul 10.4

Codoni și aminoacizi codificați

Codoni	Aminoacizi codificați
GCU, GCC, GCA, GCG	Alanină
GGU, GGA, CGC, CGG	Arginină
AGG, AGA	Asparagină
AAU, AAC	Acid aspartic
GAU, GAC	Cisteină
UGU, UCC	Acid glutamic
GAA, GAG	Histidină
CAU, CAC	Fenilalanină
UUU	Lizină
AAA, AAG	Metionină
AUA, AUG	Prolină
CCU, CCC, CCA, CCG	Serină
UCA, UCG, AGU, AGC	Tirozină
UAU, UAC, UAG	

Rolul acizilor nucleici în biosinteza proteinelor. Atît ADN, cît și ARN sînt implicați în diverse moduri în mecanismul biosintezei proteinelor. ADN intervine în conversia informației, iar ARN în transmiterea acestei informații. În alți termeni ADN este suportul genotipului pe cînd ARN este implicat în expresia fenotipică a acestui genotip.

Importanța acizilor deoxiribonucleici. Astăzi se cunosc patru dovezi fundamentale în favoarea ADN ca suport al genotipului. Aceste dovezi nu ating universul celulelor eucariote, dar datele achiziționate sînt în favoarea că se pot transpune organismelor superioare. Ele se referă la: transformarea la bacterii, conjugarea la bacterii, translația de bacteriofagi și puterea infecțioasă a virusurilor. Transformarea la bacterii constă în trecerea unei bacterii în alta, prin intermediul ADN. S-a demonstrat că purtătorul acestei transformări este ADN. Proteinele și ARN nu au această capacitate. Bacteriile se pot conjuga între ele, în care una este donor și alta acceptor. Donorul transmite ADN, sub formă de cromozom bacterian. În toate celulele, ADN este suportul genotipului.

Importanța acizilor ribonucleici. Rolul acizilor nucleici în biosinteza proteinelor este deosebit, dar dovezile experimentale sînt în favoarea unei implicări directe a ARN. Pe plan cantitativ cei mai importanți sînt *m*ARN. Ribozomii, care sînt particule citoplasmatice, sînt alcătuiți din ribonucleoproteine (65—70 % ARN și 30—35% proteine).

Mecanismul biosintezei proteinelor. Biosinteza proteinelor constă de fapt în mecanismul transmiterii informației genetice de la ADN nuclear la aparatul

Scanned with OKEN Scanner

celular de biosinteză a proteinelor, care este ribozomul și al traducerii specifice a acestui mesaj în secvența specifică de aminoacizi. Acest fapt denotă că în biosinteza proteinelor sînt implicate două etape mari, și anume:

a) *transcrierea mesajului genetic* de la ADN în *m*ARN;

b) *translația* sau *traducerea mesajului genetic* în secvența de aminoacizi din proteină, etapă care comportă:

— activarea aminoacizilor;
— fixarea lor pe *t*ARN;
— inițierea catenei polipeptidice,
— prelungirea sau elongarea acestei catene,
— terminarea catenei și eliberarea ei.

Multe date fundamentale au fost achiziționate la *protocariote*, iar unele dintre ele au putut fi aplicate sistemelor *eucariote* fără prea multă imaginație.

Transcrierea mesajului genetic de la ADN la mARN. Transcrierea are loc în nucleul celular și constă în reînscrierea informației codificate în ADN, în cea de *m*ARN care se formează pe catena matriță de ADN, sub acțiunea ARN-nucleotidtransferazei ADN-dependente (transcriptază).

$$\text{ADN-matriță} + n\,\text{ATP} + x\,\text{CTP} + y\,\text{GTP} + z\,\text{UTP} \underset{Mg^{2+}}{\overset{\text{transcriptază}}{\rightleftharpoons}} \underbrace{\text{ADN}-(\text{AMP})_n-(\text{CMP})_x-(\text{GMP})_y-(\text{UMP})_z}_{\text{mARN}} + (n+x+y+z)\ \text{pirofosfat}$$

S-au adus dovezi experimentale că numai catena de ADN mai bogată în baze nucleice pirimidinice transferă informația la *m*ARN. În codonii de *m*ARN sintetizat este transcris în mod riguros complementar mesajul ereditar aflat în ADN. Transcrierea sau „citirea" începe la extremitatea 3′—OH și se produce în direcția extremității 5′-fosfat a catenei de ADN, iar ARN mesager sînt sintetizați cu formarea catenei de la 5′-fosfat spre 3′-OH, tot așa cum sînt catenele antiparalele în ADN matriță (fig. 10.56). Procesul începe deci prin desfacerea helixului de ADN în cele două catene, dar fără să se rupă, iar una din aceste catene servește ca matriță în biosinteza unui *m*ARN. La o scurtă durată de existență, acidul nucleic hibrid ADN-ARN format, având helixul format dintr-o catenă de ADN și alta de ARN, se desface în cele două catene

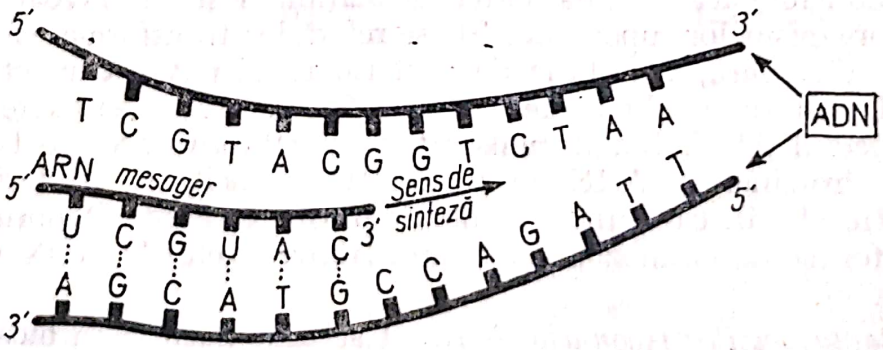


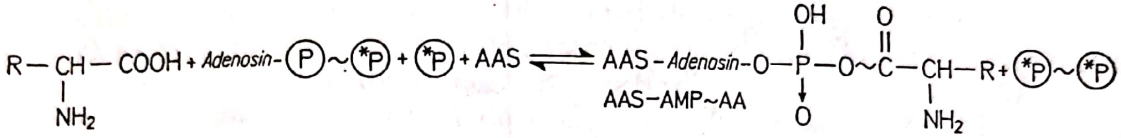
Fig. 10.56. Transcripția de ADN în mARN.

și *m*ARN traversează din nucleu în citoplasmă, atașîndu-se apoi unui ribozom sau poliribozom. În citoplasmă prin conlucrarea *m*ARN, *t*ARN, a ionilor Mg^{2+} și a altor compuși, are loc înșirarea aminoacizilor în catena polipeptidică cu respectarea riguroasă a secvenței bazelor nucleice în codonii de *m*ARN.

Scanned with OKEN Scanner

Translația mesajului genetic. Etapa ribozomială a biosintezei proteinelor se află în strînsă legătură cu cea citoplasmatică de activare a aminoacizilor și de legarea lor de *t*ARN, care apoi îi va transfera la ribozom și îi va adapta ulterior într-o secvență specifică, dictată de *m*ARN.

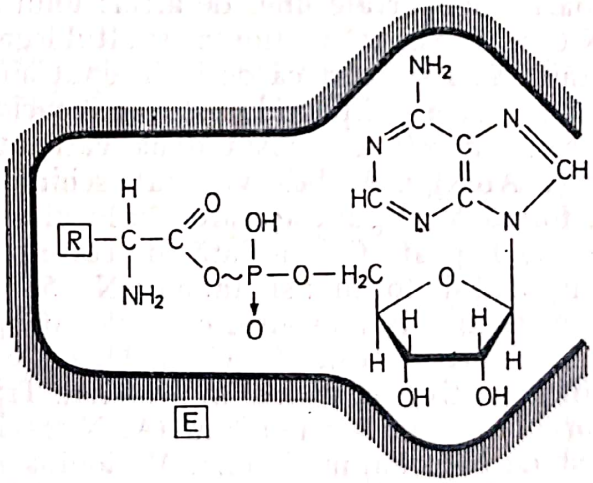
— *Activarea aminoacizilor.* Procesul de activare a aminoacizilor începe prin transformarea lor în aminoacil-AMP, în prezența de ATP și a unor enzime aminoacid-activatoare, numite aminoacil-*t*ARN-sintetaze (AAS). Acest fapt a putut fi confirmat prin utilizarea ATP, în care restul de pirofosfat a fost radioactiv și a unui lichid citoplasmatic. Reacția ce are loc este următoarea:



De aici rezultă faptul că activarea aminoacizilor are loc printr-o fosforilare a grupei carboxil. Prin activare, aminoacizii sînt susceptibili de a fi transferați cu ușurință pe un acceptor.

Fiecare aminoacid posedă o enzimă de activare specifică, iar aminoacidul activat, numit aminoacil-adenilat, este puternic atașat la enzima implicată în formarea acestuia. Aminoacidul formează un complex ternar (enzimă-AMP-aminoacid) a cărui structură schematizată este cea alăturată. Reacția enzimatică este reversibilă și foarte specifică.

— *Fixarea aminoacidului pe tARN.* Este dificil a distinge reacția precedentă, de activare, de cea de transfer la un *t*ARN, întrucît ligaza (aminoacil-*t*ARN-sintetaza) care intervine în activare participă și la fixarea pe *t*ARN.



AAS are o specificitate și față de *t*ARN, astfel că reacționează cu o singură specie *t*ARN și numai cu aminoacidul specific, pe care îl fixează la *t*ARN, care îl poate transporta la locul biosintezei proteinei. Enzima AAS reacționează mult mai ușor cu *t*ARN rezultat din celula din care provine ea însăși. Acest t_1ARN fixează aminoacidul activat pe hidroxilul din 2′ sau 3′ a ribozei de la capătul nucleotidei (de restul de acid adenilic cu tripletul ACC) al t_1ARN specific. Reacția globală se poate scrie astfel:

$$\text{AAS—AMP} \sim \text{AA} + t_1\text{ARN} \rightleftharpoons \text{AAS} + t_1\text{ARN} \sim \underset{\underset{\text{O}}{\|}}{\text{C}}\text{—}\underset{\underset{\text{NH}_2}{|}}{\text{CH}_2}\text{—R}$$

Aminoacil-t_1ARN (AA-t_1ARN)

Scanned with OKEN Scanner

Extremitatea terminală cu fragmentul de aminoacil-*t*ARN astfel sintetizat este indicat prin structura următoare:

Structura unui fragment de AA-t_1ARN.

Structura terminală a complexului acid adenil-aminoacid prezintă o analogie structurală cu antibioticul numit puromicină, fapt ce explică modul de acțiune a acestui antibiotic de inhibitor al biosintezei proteinelor.

— *Inițierea catenei polipeptidice.* Mecanismul prin care începe biosinteza unei catene polipeptidice este astăzi bine elucidat, mai ales în sisteme bacteriene. Inițierea biosintezei catenei polipeptidice este asociată cu două fenomene în aparență foarte îndepărtate unul de altul: unul legat de existența a două tipuri de *t*ARN care transportă metionină și altul legat de descoperirea de factori specifici de inițiere. Este cert că de la început aminoacidul așezat în primul loc al biosintezei unei polipeptide este aminoacidul N-terminal. S-a demonstrat, cu *Escherichia coli*, că există două varietăți de *t*ARN pentru metionină: $t\mathrm{ARN}_F^{met}$ și $t\mathrm{ARN}_M^{met}$. Ambele varietăți schimbă metionina în condiții foarte diferite: forma M asigură așezarea în locul specific din catenă în cursul elongației; forma F poate fi formilată (de către o formilază și în prezența donorului tradițional de formil: și anume: N—5, N—10—formil-tetrahidrofolic) și așază metionina la începutul catenelor polipeptidice prin împerecherea cu codonii inițiatori AUG sau GUG a *m*ARN. Codonul AUG codifică intercalarea metioninei, iar GUG a valinei în proteină. Triada AUG—GUG——GUA codifică încorporarea în ribozom a unui *t*ARN special, care este capabil să transporte un rest de N-formil-metionină. Metionina este formilată după legarea ei de *t*ARN. Formilmetionina conține cea mai simplă legătură peptidică

$$\begin{array}{l} \mathrm{HOOC—CH—CH_2—CH_2—S—CH_3} \\ \qquad\quad\;\; | \\ \qquad\quad\; \mathrm{NH—CHO} \end{array}$$

și ea ocupă succesiv locul aminoacil-*t*ARN și al peptidil-*t*ARN pe ribozomi, ceea ce face posibilă inițierea biosintezei proteinei, fapt ce nu pot face ceilalți aminoacizi. În acest fel, la extremitatea N-terminală se află secvența formil-NH-metionină-alanină-serină în proteinele din *E. coli*.

Astăzi este confirmat faptul că toate proteinele sintetizate nu posedă un rest de N-formil-metionină în poziția numărului 1. Acest fapt denotă că are

Scanned with OKEN Scanner

loc o deformilare și eliminarea ulterioară a metioninei, astfel că aminoacidul numărul 2 în biosinteză devine 1 în secvența terminală.

— *Elongarea sau formarea propriu-zisă a catenei polipeptidice.* Locul de formare a peptidei îl constituie ribozomii, pe care se fixează cîte o catenă de *m*ARN. În mod obișnuit *m*ARN înfășoară mai mulți ribozomi, alcătuind un polizom, iar aminoacizii legați de *t*ARN sub formă de AA-*t*ARN se fixează de polizomi în ordinea dictată de *m*ARN. De aici rezultă faptul că realizarea biosintezei peptidei este condiționată de fixarea *t*ARN pe ribozomi. Legarea se realizează prin legături de hidrogen între bazele nucleice ale *m*ARN și regiunile în buclă ale *r*ARN, dar pot interveni și legături ionice între ionii Mg^{2+} și resturile de acid fosforic din ambele tipuri de ARN. Fragmentul de *m*ARN migrează pe ribozomi, iar codonii lui ocupă succesiv locul în care se desfășoară biosinteza. De codonul ajuns în acest loc se fixează în mod specific *t*ARN care transportă aminoacidul codificat de acel codon. Fixarea aminoacil-*t*ARN pe ribozom este înlesnită de o anumită zonă din molecula de *t*ARN, iar legarea atît de codonul *m*ARN, cît și de ribozom îi conferă o anumită stabilitate. Totdeauna însă în ribozom, alături de locul aminoacil-*t*ARN se află și un loc pentru polipeptidil-*t*ARN. Polipeptida a cărei catenă urmează să fie prelungită este legată de *t*ARN, care se află și el legat numai provizoriu în locul destinat polipeptidil-t-ARN. Legarea polipeptidei de *t*ARN se realizează prin carboxilul aminoacidului legat în etapa precedentă în catenă, iar prelungirea constă în transferul catenei polipeptidice deja formate pe aminoacidul fixat pe ribozom. Schematic, formarea unei polipeptide poate fi redată astfel:

$$n\,AA-t-ARN + n\,GTP \xrightarrow{(m\,ARN\,+\,r\,ARN + Mg^{2+})} n-t-ARN + polipeptidă$$
$$n\,GDP \quad n\,\textcircled{P}\sim\textcircled{P}$$

Cuplarea succesivă a aminoacizilor prin legarea grupării NH_2 cu gruparea COOH terminală a peptidei poate fi reprezentată prin reacția:

$$t_1ARN\text{-}Ala + t_2ARN\text{-}Gli\text{-}Tir \xrightarrow{Mg^{2+}} t_2ARN + t_1ARN\text{-}Ala\text{-}Gli\text{-}Tir$$
$$GTP \quad GDP$$

În urma procesului de transferare a peptidei, structura *t*ARN din peptidil-*t*ARN este așa de mult modificată încît el nu mai poate rămîne pe ribozom și acesta este îndepărtat concomitent cu migrarea *m*ARN și lasă liber locul aminoacil-*t*ARN, în care se va fixa t_3ARN încărcat cu un nou aminoacid codificat.

Pentru a înțelege mai bine mecanismul elongației unei catene polipeptidice trebuie să se ia în considerare pe de o parte faptul că la un codon de *m*ARN corespunde o fixare specifică a unui aminoacid prin intermediul anticodonului *t*ARN, pe de altă parte că ribozomul participant la sinteza peptidică alunecă de-a lungul catenei *m*ARN parcurgînd în mod succesiv toți codonii $5' \rightarrow 3'$, și în sfîrșit că, pe subunități de 50S a ribozomului se află două locuri diferite de fixare: locul destinat peptidei și locul destinat aminoacidului. Complexul de inițiere $tARN_F^{met}$ este fixat pe un codon de inițiere AUG din *m*ARN. Acest *t*ARN se fixează de asemenea, la subunitatea 50S al ribozomului care se află plasat în locul destinat peptidei, dar dintr-o dată. În al doilea *t*ARN, specific codonului următor vine și se așază, purtînd aminoacidul următor, în locul aminoacidului din subunitatea 50S. Această fixare necesită prezența GTP (nehidrolizat) și a factorilor care participă la condensarea grupării

Scanned with OKEN Scanner

COOH din aminoacidul nr. 1 cu grupa NH_2 din aminoacidul nr. 2. În acest fel primul *t*ARN devine liber, lăsînd vacant locul destinat peptidei. În acest fel se produce atunci o mișcare în direcția extremității lui mARN. Această translocație necesită GTP (care va fi hidrolizat pentru a furniza energie). Prin această mișcare, ansamblul t_2ARN (purtînd condensați aminoacizii nr. 1 și nr. 2) se așază în locul destinat peptidei, eliberînd codonul nr. 3 locul destinat aminoacidului care va fi rezervat pentru t_3ARN, care poartă aminoacidul nr. 3. Mecanismul de fixare a aminoacidului și de formare a peptidei pe ribozom poate fi redat sugestiv prin modelul din figura 10.57.

— *Terminarea și eliberarea catenei polipeptidice.* Terminarea unei catene polipeptidice se realizează prin intervenția unui număr de codoni „nonsens"

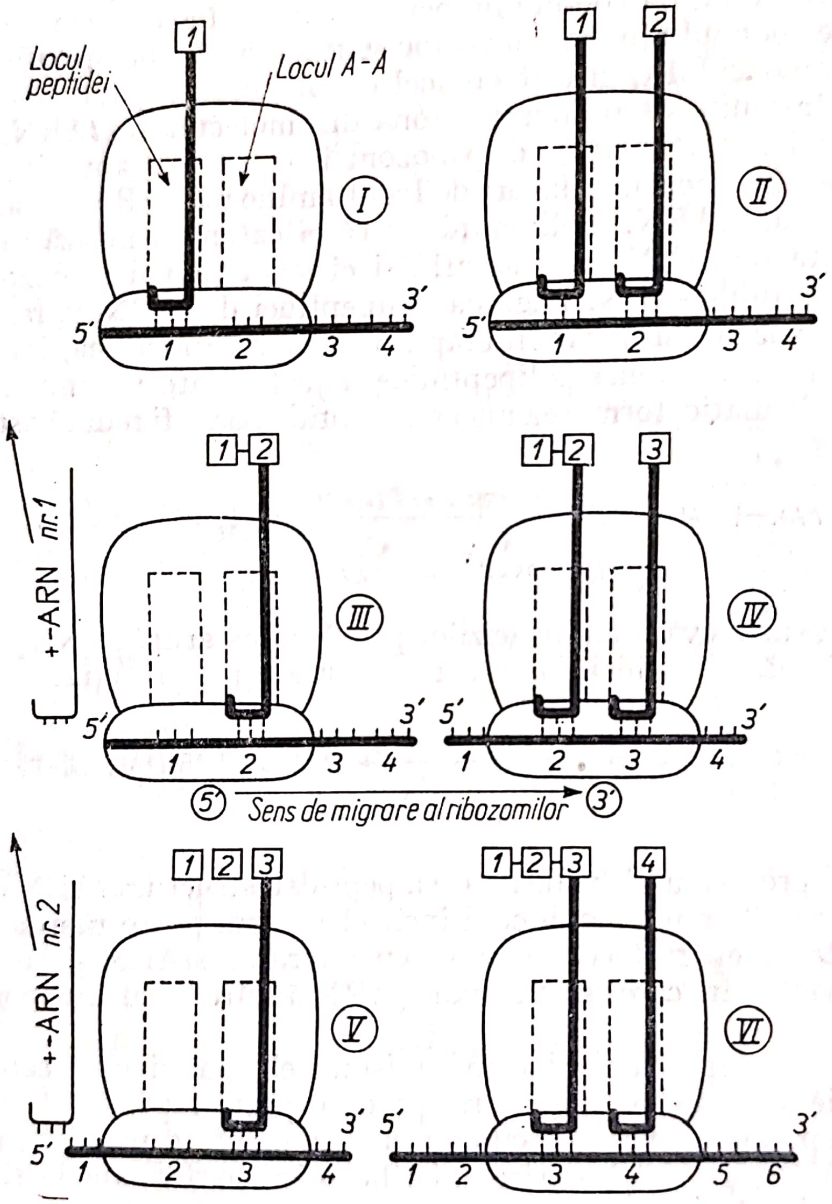


Fig. 10.57. Mecanismul de fixare a aminoacidului pe ribozom.

și de factori de terminare. Se cunosc trei codoni UAG, UGA și UAA care nu codifică nici un aminoacid întrucît nu există în celule nici un *t*ARN care să aibă anticodon asemănător lor. Teoretic, un singur codon nonsens există și anume al ribozomului în cursul progresiei lui 5'→3' de-a lungul lui *m*ARN datorat ajungerii la blocarea biosintezei. Se crede că mutații corecte care se alterează transformă codonul nonsens în codon cu sens. Se pare că natura

Scanned with OKEN Scanner

ia precauții și înșiră în mod succesiv pe *m*ARN (probabil și pe ADN de origine), mai mulți codoni nonsens în locul altora (se cunoaște un exemplu de 7 codoni nonsens). La acest mecanism eficace de terminare a „citirii" se adaugă factorii de terminare, de natură proteică: R_1 care funcționează cu codonii UAA și UAG și R_2 care funcționează cu UGA și UAA. Conjugarea acestor posibilități antrenează detașarea ultimului *t*ARN (și a catenei polipeptidice pe care o poartă) și eliberarea lui în mediul celular. Edificiul polizomic se distruge:

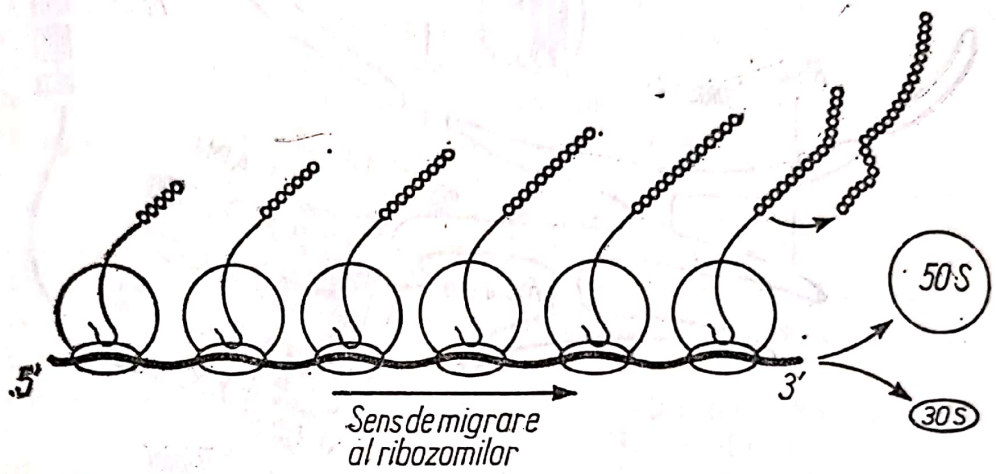


Fig. 10.58. Terminarea elongării catenei polipeptidice și punerea ei în libertate.

*m*ARN, dacă nu este reutilizat, este hidrolizat de către polinucleotid-fosforilaza și subunitățile ribozomice 30S și 50S se separă pentru a se regăsi în fondul comun al procesului biosintetic.

Mecanismul de funcționare a polizomilor în cursul biosintezei catenei polipeptidice este redat schematic în figura 10.58.

În general, *m*ARN este rezultatul acțiunii mai multor cistroni, secvențe nucleotidice, care codifică o anumită proteină. În cazul proteinelor, de exemplu a celor cu funcții de enzime, care funcționează în cadrul reacțiilor integrate în însăși calea metabolică, zonele din ADN purtătoare de informații sînt înrudite, iar *m*ARN rezultat din transcripție este numit policistronic. Indiciile terminării citirii (codoni nonsens) sînt în acel moment spațiile intercistronice, mai mult sau mai puțin ample.

În figura 10.59 este redată interacțiunea nucleu-citoplasmă în cursul biosintezei proteinelor.

Consumul energetic în biosinteza proteinelor este de un mol ATP utilizat la activarea aminoacidului și un mol GTP pentru fiecare legătură peptidică, adică 16 kcal/mol, din care 2—3 kcal/mol sînt înmagazinate în gruparea peptidică.

Din cele prezentate rezultă că formarea polipeptidelor nu este altceva decît „copierea" mesajului genetic conținut în gene de pe ADN, transcris în secvența bazelor nucleice de *m*ARN și transmis într-o secvență polipeptidică. Acest fapt denotă că etapa esențială în declanșarea biosintezei proteinelor este formarea de *m*ARN pe catena de ADN cromozomial.

Reglarea genetică a biosintezei proteinelor. Reglarea biosintezei proteinelor constă de fapt în intervenția diferiților factori în alegerea și intensitatea procesului de biosinteză. După *Jacob* și *Monod*, asociații de gene se află situate de-a lungul întregii catene de ADN. Fragmente din această catenă, corespund genelor operatoare și reglatoare, comandă oprirea sau declanșarea transcripției în *m*ARN secvențe de nucleotide a altor fragmente de ADN care constituie

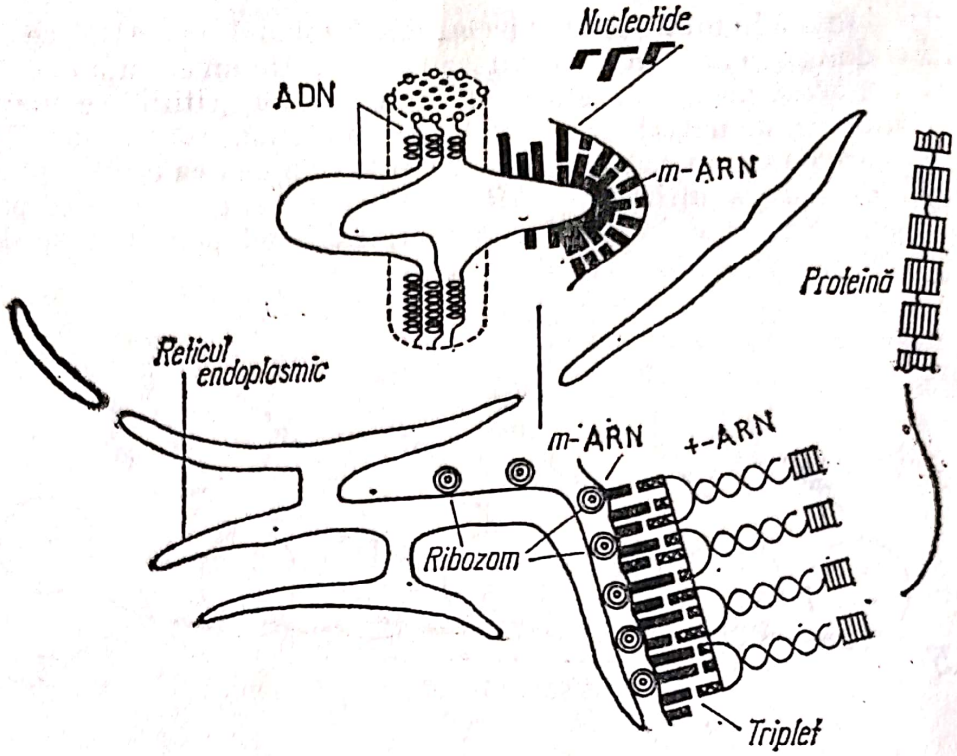
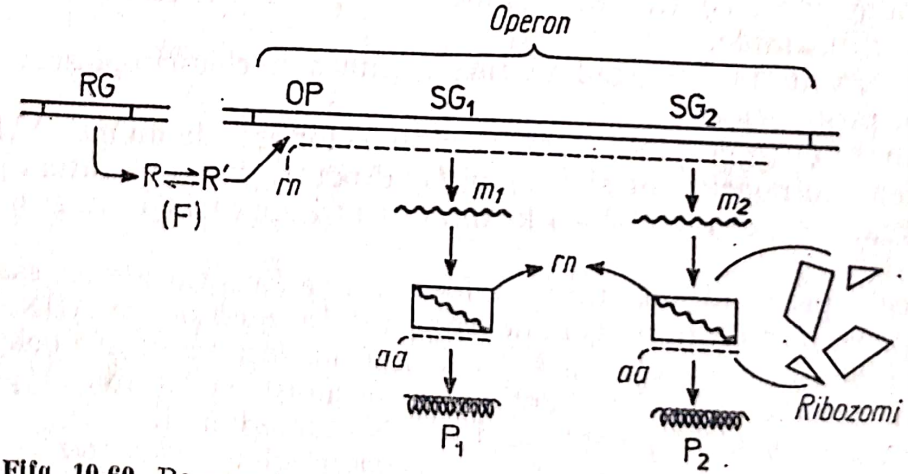


Fig. 10.59. Interacțiunea nucleu-citoplasmă în cursul biosintezei proteinelor.

genele de structură. Activitatea acestor operatori poate fi inhibată de către represori sau datorită inactivării represorului de un compus exogen care este un inductor specific. Producția represorului se află sub dependența unui alt fragment de ADN, care constituie gena reglatoare. Așa de exemplu, în cazul galactozei care induce la *E. coli* formarea β-galactozidazei represorul a fost inactivat de către galactoză care are rol de inductor enzimatic. La partea opusă, un aminoacid prezent în mediu acționează ca un corepresor, activînd represorul care va transmite informația la operator pentru a face să înceteze transcripția *m*ARN și a enzimelor necesare la producerea acestui amino-acid. Acest mod reprezintă represia enzimatică (fig. 10.60).



Fifg. 10.60. Reprezentarea schematică a reglării biosintezei proteinelor: *RG*—genă reglatoare; *O*—operator; *P*—promotor; *SC*—genă structurală; *rn*—ribonucleozidtrifosfat; *m*—*m*ARN; *AA*—aminoacid; P_1, P_2—proteine; *R*—produs furnizat de gena reglatoare; *R*—regresor care rezultă din acțiunea unui compus exogen asupra produsului genei reglatoare

La baza procesului de reglare stă operonul, care este alcătuit din ADN și se subdivide în mai mulți operoni, alcătuiți dintr-un număr variabil de gene. Genele sînt alcătuite din unități infragenice distincte, *cistronul*, *mutonul* și *reconul*, cu funcții independente. Numărul genelor dintr-un operon variază de la trei la nouă. Uneori operonul are în structura sa 15 cistroni, care codifică sinteza a nouă proteine cu rol de enzime. Cistronul este unitatea de funcțiune, întrucît determină în mod independent sinteza uneia sau a mai multor enzime. Opreonul este unitatea de transcripție, la nivelul cromozomului. Activitatea operonului este determinată de genele structurale, care este controlată de gena operatoare și se găsește așezată lîngă gena structurală de la unul din capetele operonului. Gena reglatoare controlează formarea represorului, care interacționează cu operonul, fie pozitiv, în sinteza *m*ARN, fie negativ în blocarea acestui proces. Inductorii, substanțe care modifică represorul sînt de obicei primele substanțe (A)într-un lanț de reacții: $A^a \rightarrow B^b \rightarrow C^c \rightarrow D^d$. În acest caz gena operatoare nu mai este blocată, iar represorul este modificat de către un corepresor (R') care îl face capabil să blocheze replicarea *m*ARN și se petrece un sistem represiv. Corepresorul este de obicei ultimul produs al lanțului de reacții (produsul D).

Date recente pledează pentru rolul histonelor de reglatori ai biosintezei proteinelor prin reglarea expresiei genetice. Histonele pot inhiba sinteza de ARN, întrucît ele se pot fixa pe locurile de ADN care sînt specifice de legare ale ARN-dependente, împiedicînd în acest fel biosinteza ARN. Represorii se află de asemenea pe ADN și aparțin proteinelor bazice în cea mai mare parte histonelor sau protaminelor. Represorii ecranează genele și le inactivează în acest mod. După îndepărtarea represorului este posibilă „citirea" informației genetice stocată în porțiunea de ADN.

Reglarea hormonală a biosintezei proteinelor. La animalele superioare creșterea și dezvoltarea armonioasă sînt dependente de diverși factori hormonali. Astăzi se știe că hormonii au acțiuni multiple, că fiecare celulă sau țesut posedă diverse modalități selective de a răspunde la acțiunea hormonală, că biosinteza proteinelor nu depinde de un singur hormon, că diferitele țesuturi răspund foarte diferit la același hormon și că hormonii acționează asupra biosintezei proteinelor în concentrații foarte mici, avînd un efect negativ în doze ridicate.

Prin cercetările din ultimii ani s-au adus dovezi că în organismele mamiferelor reglarea biosintezei proteinelor este controlată de hormoni, care îndeplinesc funcția de reglatori ai genelor. Ei pot regla represia unei gene individuale sau a unui întreg operon, îndeplinind rolul de efectori allosterici ai unor represori. Ca exemple în literatura de specialitate sînt menționate acțiunile constatate la hormonii steroidici. Astfel, în organele care depind de hormonii steroidici, conținutul de ARN total scade după castrare, dar se normalizează la administrare de testosteronă. În aceste țesuturi, biosinteza proteinelor se realizează prin reglarea sintezei ARN ribozomal și mesager. De asemenea crește activitatea ARN-polimerazei.

Numeroși hormoni (ACTH, TSH, STH, insulina, hormonii gestageni și ecdisonele) induc sinteza și activitatea enzimelor și implicit biosinteza proteinelor. Așa de exemplu, ecdisonele, a căror acțiune a fost mai bine cercetată și lămurită, activează unele gene de care depinde sinteza enzimelor necesare la formarea proteinelor fibrilare ale insectelor. Substratul din aceste proteine este tirozina. Aceste gene sînt localizate în „puf"-urile cromozomiale, în care structurile elicoidale ale ADN sînt nespiralate. Genele acestea mijlocesc sinteza ARN. În urma acțiunii ecdisonelor, de exemplu, asupra larvelor

Scanned with OKEN Scanner

de muște are loc o creștere a concentrației ARN din nucleu și o activare a ARN-nucleotidiltransferazelor.

Importanța reglării biosintezei proteinelor este deosebită, atît pentru înțelegerea selecției naturale, cît și pentru înțelegerea apariției mutanților la microorganisme și a metișilor la animale. Acest fenomen de selecție este considerat a fi determinat de faptul că în orice organism există un număr strîns de celule capabile să metabolizeze substratul sau substanța aflată pentru metabolizare. În lipsa altor substanțe se vor înmulți numai celulele care sînt capabile să transforme aceste substrate, iar celelalte celule vor pieri.

Biosinteza proteinelor plasmatice. Seralbumina, fibrinogenul, α- și β-globulinele sînt sintetizate în ficat și reprezintă aproape jumătate din proteinele sintetizate în acest organ. Semiviața lor este foarte scurtă: 7 zile pentru seralbumine. Acest fapt denotă că există sinteze și degradări foarte active ale proteinelor plasmatice; ele sînt utilizate de țesuturi ca surse de aminoacizi în sinteza de proteine proprii și constituie o formă de transport a aminoacizilor, elaborați în ficat din aminoacizi alimentari rezultați din hidroliza proteinelor și absorbiți de mucoasa intestinală.

Sinteza anticorpilor care sînt γ-globuline are loc în plasmocitele circulante ale sîngelui, ganglionilor limfatici, în măduva osoasă și în splină. Formarea lor are loc conform reacțiilor arătate la biosinteza proteinelor.

Necesarul organismului în proteine și echilibrul azotat. *Permanența metabolismului azotat și echilibrul dinamic al proteinelor.* Eliminarea metaboliților azotați, rezultați în metabolismul intermediar se realizează exclusiv prin urină. Cantitatea de azot în urină este în mod obișnuit foarte apropiată de valoarea celui din furajele consumate. În acest caz animalul se află în *echilibru azotat.* În caz contrar, cînd azotul urinar este superior sau inferior aportului azotat, balanța azotată este pozitivă sau negativă.

Biosinteza proteinelor, la animalele adulte — în echilibru azotat — are ca efect înlocuirea proteinelor distruse. În reprezentarea proteinelor celulare în echilibru cu aminoacizii care le constituie, se efectuează un schimb continuu între aminoacizii liberi și combinați în proteine. Aminoacizii aduși prin alimentație se însumează la cei preexistenți în organism și participă la modificarea zilnică, formînd un *fond comun metabolic.* Situația echilibrului reacțiilor se face ca excesul lor să fie degradat selectiv și echilibrul să fie restabilit prin punerea în acțiune a multiplelor reacții ale metabolismului intermediar. În acest fel echilibrul se restabilește constant între procesele de sinteză și reacțiile catabolice.

Schimbări de aminoacizi și moleculele proteice. Prin experiențe cu aminoacizi marcați radioactiv s-a constatat o modificare neîntreruptă între aminoacizii constituenți ai moleculelor proteice și aminoacizii înșiși aflați în stare liberă, fapt ce denotă că există un *fond comun de aminoacizi.*

10.7. CIRCUITUL HIDROMINERAL

Interrelațiile și transformările chimice ale substanțelor minerale la animalele domestice reprezintă un domeniu de o deosebită complexitate. Se știe că nu toate substanțele minerale sînt supuse unor transformări chimice propriu-zise; se obișnuiește totuși ca modul lor de folosire de către organismul animal să fie încadrat în noțiunea de metabolism.

Scanned with OKEN Scanner

Apa reprezintă 60—70% din masa corporală la mamifere, proporție ce scade odată cu înaintarea în vîrstă a animalelor. Aportul apei în organism se face pe două căi—aport exogen (apa consumată ca atare, apa conținută în alimente) și aport endogen, reprezentat de apa de oxidare (metabolică). Prin oxidarea completă a principalelor grupe de substanțe se obțin următoarele cantități de apă (kg apă/kg substanță uscată): gliceride — 1,075; glucide — 0,550; protide — 0,410. În cadrul bilanțului general al apei este necesar să se menționeze existența unui circuit intern, reprezentat în special prin secrețiile digestive, din care cea mai mare parte se reabsorb.

Apa preluată de organism după absorbție este repartizată în întregul organism, în două mari compartimente — extracelular (reprezentînd 15—25% din greutatea corporală) și intracelular (40—50%); în compartimentul extracelular este inclusă apa din plasma sanguină și din lichidele lacunare. Apa din lumenul unor organe cavitare (rumen, intestin, canale de excreție) constituie apa transcelulară, apa care urmează să fie absorbită sau care a fost secretată.

10.7.2. SODIUL ȘI CLORUL

Sodiul este principalul cation al lichidelor extracelulare și deține roluri fundamentale în menținerea balanței hidrice, în menținerea echilibrului osmotic al plasmei sanguine și a lichidului interstițial, în reglarea echilibrului acidobazic și a excitabilității neuromusculare; sodiul este necesar la transportul aminoacizilor și glucozei prin membranele celulare. Sodiul este răspîndit în tot corpul, în special în lichidele extracelulare; reprezintă 0,2% din greutatea totală a organismului animal. Concentrația sodiului în sîngele total este diferită în funcție de specie, în timp ce în plasma sanguină variațiile sînt extrem de reduse (tab. 10—5).

Reglarea eliminărilor de sodiu are loc prin modificări ale filtrării glomerulare, prin modificări ale secreției de aldosteron. Hiponatremia, hipovolemia determină secreția de renină, o protează ce acționează asupra hipertensinogenului (o globulină produsă în ficat), rezultînd angiotensina I; sub acțiunea unei peptidaze (enzimă de convertire) acest decapeptid se transformă în octapeptid — angiotensina II, care acționează direct asupra celulelor glomerulare din corticosuprarenală și intensifică secreția de aldosteron. Un nivel crescut de potasiu în plasmă, acționînd direct asupra cortexului suprarenal, determină același efect. Aldosteronul acționează în sensul creșterii resorbției de sodiu la nivelul tubilor renali, favorizînd în același timp eliminarea urinară a ionilor de potasiu și de hidrogen (fig. 10.61).

Clorul este anionul predominant în lichidele extracelulare. Metabolismul clorului este strîns corelat cu cel al sodiului. Cl^- deține, împreună cu Na^+, un rol important în menținerea izotoniei extracelulare și intervine în reglarea echilibrului acidobazic, atît prin fenomenul „migrării", cît și prin participarea la schimburile ionice tubulare, unde contribuie la reținerea anionului bicarbonic (HCO_3^-). Clorul acționează ca activator al amilazei salivare; de asemenea, joacă un rol important în formarea acidului clorhidric din secreția gastrică și intervine în digestia proteinelor. Clorul este excretat sub formă de cloruri și în special sub formă de NaCl; excreția are loc pe cale renală în proporție de 95%.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 10–5

Electroliții din serul sanguin la diverse specii de animale domestice
(după Cornelius Ch. E. și Kaneko J.J., 1963)

Constituenți	Bou	Cal	Oaie	Capră	Porc	Câine	Pisică	Iepure
Sodiu (mEq/l)	142 (132–152)	149 (146–152)	(151–160)	–	149 (140–160)	143 (137–149)	151 (147–156)	(141–156)
Potasiu (mEq/l)	4,8 (3,9–9,5)	3,3 (2,7–3,5)	4,8	3,6	5,9 (4,9–7,1)	4,4 (3,7–5,8)	4,3 (4,0–4,5)	5,1
Magneziu (mEq/l)	2,3 (1,0–2,9)	(1,5–2,1)	1,9 (1,7–2,1)	2,1	2,2 (1,9–3,2)	1,9 (1,4–2,4)	2,2	2,0 (1,7–2,5)
Calciu (mg/100 ml)	10,8 (9,4–12,2)	(9–13)	9,2–1,0	(9,0–12,0)	(11,0–11,4)	10,6 (9,4–12,2)	(9–12)	(10,4–20)
Fosfor anorganic (mg/100 ml)	4,3 (2,3–7,4)	(3,1–5,6)	–	(3–11)	(5,3–9,6)	5,6 (4,0–9,0)	–	5,9
Clor (mEq/l)	104 (97–111)	102 (98–106)	116	118	103 (100–105)	106 (99–110)	116	105 (92–112)

Fig. 10.61. Mecanismul de reglare a metabolismului sodiului corelat cu mecanismul de protejare a volumului lichidului extracelular (LEC); linia întreruptă marchează inhibiția.

În declanșarea carenței în clorură de sodiu factorul important este Na^+ și nu Cl^-; tulburările produse pot fi prevenite prin administrare de NaCl, nu și de alte cloruri. Carența primară în NaCl apare mai frecvent la animalele în lactație sau după o transpirație intensă; vomismentele repetate, descărcările diareice sînt urmate de tulburări similare.

Clorura de sodiu în cantități mari este toxică prin ambii ioni, mai ales pentru suine, păsări, carnivore și ovine; astfel de intoxicații se întîlnesc mai rar la rumegătoarele mari și la cabaline. În intoxicația cu NaCl, în primele șase ore, are loc o deshidratare brutală a celulelor, în special la nivelul musculaturii, ficatului și creierului, cu consecințe dezastruoase asupra metabolismului celular.

Scanned with OKEN Scanner

10.7.3. POTASIUL

Potasiul este principalul cation intracelular. Potasiul este distribuit în întregul organism și reprezintă circa 0,20—0,35% din greutatea corpului animal. Potasiul intracelular (98%) se găsește de obicei liber, sub formă de K^+. Conținutul de K în sîngele total este diferit în funcție de specie; concentrația în plasmă este însă aceeași la toate speciile (eritrocitele conțin cantități diferite de la o specie la alta).

Potasiul are un rol deosebit în menținerea potențialului membranelor celulare, în activitatea ritmică a cordului, în contracția musculară, în transmiterea influxului nervos, în metabolismul glucidic, lipidic și protidic, în menținerea echilibrului acidobazic etc.; există dovezi că potasiul este necesar pentru stocarea și secreția insulinei. Potasiul este mai puțin legat de echilibrul hidric decît sodiul. Rolul potasiului în metabolismul glucidic, protidic, lipidic și în respirația celulară se realizează îndeosebi prin intermediul unor enzime, care necesită K^+ pentru a-și exercita activitatea.

Între sectorul celular și lichidele extracelulare au loc schimburi foarte active de K^+. Deplasările bruște de K^+ din sectorul celular în cel extracelular și invers se însoțesc de hiper- și respectiv hipopotasemii; astfel de situații se pot întîlni în cursul acidozelor (ieșirea potasiului din celule, cu hiperpotasemie) sau în stările de alcaloză (pătrunderea potasiului în celule, cu hipopotasemie). Gradientele K intracelular/K^+ extracelular și K^+ intracelular/Na^+ extracelular se mențin contrar legilor difuziunii, utilizînd o mare parte din energia eliberată de oxidările celulare. Orice activitate celulară este urmată de un influx celular de Na^+ (depolarizare) și de un eflux de K^+, care conduce la refacerea echilibrului ionic al membranei celulare; ulterior, prin activitatea „pompei cuplate Na^+ — K^+" se revine la echilibrul ionic inițial (repolarizare).

Încă din 1935 Gr. Benetato și colab. au arătat că în stările de oboseală excesivă, în perioada de senilitate, în insuficiența suprarenală se produce o pierdere de potasiu din celulele musculare, fenomen care survine în paralel cu scăderea solubilității proteinelor din musculatură. În cursul degradării proteinelor musculare se eliberează, într-adevăr, pentru fiecare gram de azot proteic 2,7 mEq de potasiu (deci o scădere a potasiului tisular însoțită, uneori, de o creștere a acestui ion în serul sanguin — în funcție de viteza de trecere a cationului din celule în plasmă, de viteza eliminării renale și de gradul de deshidratare).

Metabolismul potasiului este în interrelație cu metabolismul natriului, fosforului, calciului și în special cu cel al magneziului; în deficiență de Mg^{2+} crește eliminarea de K^+. În cazul unei excreții anormale de K^+, Na^+ poate înlocui o parte din cantitatea intracelulară de K^+. Eliminarea potasiului are loc la nivelul rinichiului, care prin capacitatea sa de a elimina cantități variabile de K^+, deține un rol principal în reglarea echilibrului acidobazic și în reglarea bilanțului potasiului.

Reglarea metabolismului potasiului se exercită prin intermediul rinichilor (filtrare la nivelul glomerulilor, resorbție, dar și secreție la nivelul tubilor uriniferi). Excreția de potasiu este strîns cuplată cu reabsorbția tubulară a sodiului; de asemenea, eliminările de potasiu sînt în competiție cu eliminările de H^+. Aldosteronul, care favorizează reabsorbția tubulară a sodiului, facilitează totodată eliminările urinare de potasiu; nivelul crescut al potasiului în lichidele extracelulare reprezintă un stimul direct al secreției de aldosteron (v. fig. 10.61).

Intoxicația cu potasiu la animale se întîlnește în urma unor greșeli nutriționale, în urma ingerării de îngrășăminte minerale aplicate pe pășune sau

Scanned with OKEN Scanner

neglijent depozitate. Îngrășămintele potasice naturale sau sintetice fiind ingerate determină tulburări caracteristice ale activității cardiace, tulburări digestive cu caracter iritativ; consecințele devin manifeste începînd cu o concentrație de 5% a potasiului în rația furajeră.

10.7.4. CALCIUL ȘI FOSFORUL

La animalele adulte calciul reprezintă 1,2 — 1,7% din greutatea corporală; circa 99% din calciul total se găsește în schelet și dinți, iar 1% în lichidele extracelulare și în țesuturile moi. Sub formă ionizată Ca^{2+} intervine într-o serie de procese fiziologice și biochimice importante — coagularea sîngelui, permeabilitatea membranelor celulare și capilare, excitabilitatea neuromusculară, osmoreglarea, transmisia influxului nervos, în dinamica anumitor reacții enzimatice (activarea ATP-azei) etc.

Fosforul reprezintă 0,8—1,0% din greutatea corporală; 80% din P total se găsește în schelet și dinți, iar 20% este prezent în țesuturi și umori. Fosforul se găsește aproape în totalitate sub formă de săruri ale acidului ortofosforic și în cantități minime ca derivați ai acidului pirofosforic; se mai găsește, de asemenea, sub formă de acid ortofosforic legat de o serie de substanțe organice, cunoscut în acest caz sub denumirea de fosfor glucidic, lipidic și protidic. Sub formă ionică (anion fosfat) intervine în numeroase procese metabolice — menținerea echilibrului acidobazic, sinteza principalilor compuși macroergici (ATP, GTP, UTP etc.), în sinteza acizilor nucleici și a unor coenzime foarte importante (NAD^+, $NADP^+$, FAD, piridoxalfosfatul, tiaminpirofosfatul etc.).

Calcemia suferă variații în funcție de starea fiziologică a animalelor; spre exemplu la vacile aflate în gestație avansată sau în lactație survine o diminuare a calcemiei. În sînge P total este reprezentat aproximativ egal de fracțiunile acidosolubile și acidoinsolubile; fracțiunea acidosolubilă este divizată aproape egal în P anorganic și P organic.

Aportul corespunzător de calciu și fosfor are o deosebită importanță pentru tineret, pentru animalele în lactație, pentru animalele gestante. Absorbția calciului are loc la majoritatea speciilor în duoden și jejun, sub formă de Ca^{2+} printr-un transport activ, dependent sau stimulat de prezența vitaminelor D și prin difuzie simplă, difuzie activată de acidul L-ascorbic. Aceste mecanisme de absorbție au loc cu consum de energie și în prezența unei proteine denumită „proteina Wasserman". Sinteza acestei proteine, care fixează calciul în proporție de un atom de Ca la o moleculă de proteină, este condiționată de prezența formei active a vitaminei D_3. Absorbția fosforului are loc la nivelul duodenului, în special în porțiunea distală, printr-un transport activ, sub formă de anion PO_4^{3-} și este favorizată de prezența K, de un nivel relativ scăzut în Ca, Fe, Sr, Mg, Be și de prezența unui mediu acid.

Reglarea metabolismului fosfocalcic are loc prin mecanisme complexe, vitaminice și hormonale, la nivelul intestinului, rinichiului și oaselor. Reglarea vitaminică se realizează în special prin forma activă a vitaminei D_3, iar secundar prin vitaminele A și C. Vitamina D_3 stimulează fixarea osoasă a calciului, prin activarea osteoblaștilor și prin creșterea concentrației citratului în lichidele interstițiale ale osului (prin diminuarea oxidării lui). În cazul osului rahitic este încetinită atît fixarea, cît și mobilizarea osoasă a calciului; se crede că această încetinire are loc datorită diminuării glicogenolizei, care duce la o scădere a sintezei de ATP, furnizorul principal de

Scanned with OKEN Scanner

HPO_4^{2-}, necesari osteogenezei. Efectele digestive și osoase ale vitaminei *D* s-ar datora stimulării stocajului de calciu în mitocondriile celulare, cu menținerea consecutivă a calciului ionic citoplasmatic la valori normale. Reglarea hormonală se realizează în special de către parathormon și calcitonină, care au acțiune antagonistă; secreția parathormonului crește în hipocalcemie și diminuează în hipercalcemie, aproape pînă la dispariție. În mecanismul de reglare intervin în mod secundar hormonii glucocorticoizi, steroizii sexuali (estrogenii și androgenii), hormonul de creștere, hormonii tiroidieni, ocitocina și vasopresina. Parathormonul își exercită acțiunea asupra tuturor etapelor metabolice ale Ca și P; acțiunea principală a parathormonului se exercită însă la nivelul osului. Parathormonul acționează asupra transportului transmembranar al Ca^{2+} și HPO_4^{2-}, favorizînd ieșirea Ca^{2+} și intrarea HPO_4^{2-}, provocînd astfel demineralizarea osului și implicit o creștere a calcemiei și o scădere a fosfatemiei; în același timp este stimulată fosfaturia. Descărcarea calcitoninei are loc ca urmare a unei hipercalcemii, determinînd scăderea calcemiei și fosfatemiei, în special prin inhibarea resorbției osoase, stimulînd deci formarea de țesut osos; efectul hipocalcemiant este rapid și de scurtă durată.

Scăderea calciului ionic duce la o creștere a excitabilității neuromusculare, ce se evidențiază clinic sub forma tetaniei paratireoprive, manifestată prin convulsii și spasme musculare.

Febra vituleră sau parezia de parturiție este o tulburare metabolică, care apare la vacile de lapte, la scurt timp după fătare; este caracterizată prin hipocalcemie, parezie, colaps circulator și depresiunea sistemului nervos central. Se admite că semnele clinice din febra vituleră se datoresc în principal hipocalcemiei și hipofosforemiei și în mod secundar variațiilor magneziemiei.

Hipocalcemia oilor este o tulburare a metabolismului calciului, care apare la oile în gestație avansată sau în lactație, caracterizată prin manifestări depresive și convulsive.

Hipercalcemia (prin hipervitaminoză *D*, hipersecreție de parathormon) este urmată de o hipoexcitabilitate neuromusculară, calculoză (în caz de hipercalciurie), calcifiere metastatică. O depozitare anormală de fosfat tricalcic are loc și în calcifierea distrofică (precipitarea sărurilor de calciu în țesuturile necrozate).

Urolitiaza apare la toate speciile, îndeosebi la masculi, fiind mult mai frecventă la ovinele supuse îngrășării intensive, prin rații bogate în concentrate; după P o p e, 1971, calculii urinari la mieii hrăniți cu concentrate sînt formați mai ales din fosfați de calciu, magneziu și amoniu, fiind de tip fosfatic.

10.7.5. MAGNEZIUL

Magneziul se găsește în toate țesuturile animale și în lichidele extracelulare. Concentrația intracelulară a magneziului este de aproximativ 15 ori mai mare decît cea din lichidul extracelular, Mg^{2+} fiind după K^+ al doilea cation important din interiorul celulei. Organismul mamifer conține magneziu în proporție de 0,05% din greutatea corporală. Din acesta aproximativ 70% se găsește în oase, combinat sub formă de săruri complexe cu Ca și P; restul este întîlnit în alte organe și țesuturi și circa 1% în lichidele extracelulare. Conținutul magneziului din celule și din lichidele extracelulare este

Scanned with OKEN Scanner

legat de capacitatea de absorbție, de ritmul eliminărilor (prin fecale, urină și prin lapte) și de schimburile dintre sînge și celule.

Magneziul are un rol important în transmiterea influxului nervos, în metabolismul intermediar și în special în metabolismul glucidic. În celule Mg se pare că este localizat în mitocondrii, unde are loc ciclul ATC (legătura cu metabolismul energetic de bază). Mg^{2+} este un cofactor important în activarea multor enzime (aspecte tratate anterior); intervine în metabolismul derivaților pirofosforici (în special ATP), în procesele de activare ale acizilor aminați, care ulterior se vor fixa pe acidul ribonucleic de transfer, activează enzimele care transportă anionul fosforic, de asemenea, o serie de enzime implicate în energetica musculară, în metabolismul acizilor nucleici, în metabolismul lipidic etc. Mecanismele de reglare ale magneziemiei par a avea loc la nivelul tubilor renali și ar putea fi influențate de hormonul paratiroidian și de aldosteron.

Hipomagneziemia, asociată sau nu cu hipocalcemia, este implicată în patogenia stărilor tetanice — tetania de lapte la viței (absorbție defectuoasă asociată cu concentrația redusă a Mg în lapte), tetania de parturiție, tetania de iarbă. În cazul hrănirii cu furaje verzi, bogate în proteine, cantitatea de amoniac ce se formează în prestomace crește (s-au înregistrat valori de 30—60 mg/100 ml conținut ruminal). Excesul de amoniac precipită sărurile de calciu și magneziu; devenind insolubile acestea nu se mai absorb. Hipomagneziemia la rumegătoare a fost descrisă înaintea cunoașterii sindromului clinic propriu omului.

Hipermagneziemia produce depresiune nervoasă, atonia tubului digestiv, ionizare și eliminare crescută de calciu, cu apariția rahitismului (mai ales la puii de găină), efecte narcotice; sînt menționate cazuri de calculi urinari la bovine după supradozarea cu săruri de magneziu.

10.7.6. FIERUL

Fierul este un component al hemoglobinei, mioglobinei (la caii de curse cantitatea de mioglobină este de 5—6 ori mai mare decît la om), al unor citocromi, a catalazelor și peroxidazelor etc. — așa numitul fier heminic. Aproximativ 23% din fierul din organism este legat de proteine sub formă de feritină și hemosiderină, iar 1% se găsește în plasmă și în lichidul interstițial, legat de o proteină transportoare, numită transferină sau siderofilină.

Absorbția fierului are loc în intestinul subțire, în duoden; s-a constatat că un nivel proteic scăzut în rație influențează negativ absorbția fierului. Fierul din alimente se găsește sub formă de Fe^{3+} (ferică), iar absorbția se face sub formă de Fe^{2+} (feroasă). Toți factorii care acționează asupra disocierii ionilor de fier din complexele organice și cei care acționează ca reducători, transformînd Fe^{3+} în Fe^{2+}, vor favoriza absorbția; în acest sens intervine acidul clorhidric și acidul dihidroascorbic. Controlul exercitat de mucoasa intestinală asupra absorbției de fier pare a fi legat de procesul de combinare a ionilor feroși cu apoferitina (o globulină din celulele epiteliale ale mucoasei intestinale) și formarea consecutivă de feritină, ce conține fier trivalent (un complex ferifosfoproteic). Ulterior feritina din mucoasa intestinală ar ceda fierul în plasma sanguină sub formă de Fe^{2+}. Această teorie a fost revizuită și în prezent se consideră că absorbția de fier nu implică formarea tranzitorie de feritină.

În plasmă Fe^{2+} este rapid oxidat la Fe^{3+} și astfel, în prezența CO_2 din plasmă, formează un complex cu o β-globulină, denumită transferină sau siderofilină (fig. 10.62). Fierul legat de transferină este captat mult mai ra-

pid de elementele seriei eritrocitare din măduva osoasă decît de alte celule din organism; acest mod de transport asigură dirijarea preferențială a fierului spre celulele producătoare de hemoglobină. Surplusul este depus ca rezervă în ficat, splină, rinichi, măduva osoasă; în aceste depozite fierul se găsește sub formă ferică (Fe^{3+}). Procesul de transformare a Fe^{2+} în

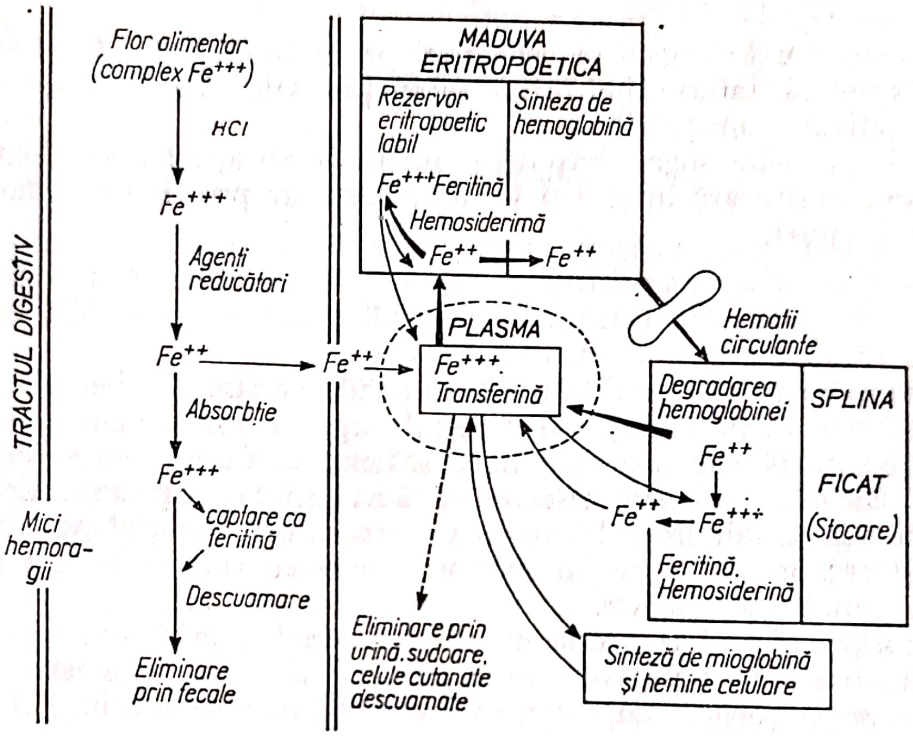


Fig. 10.62. Reprezentarea schematică a circuitului fierului în organism; grosimea săgeților corespunde unei evaluări aproximative a intensității transportu.ui.

Fe^{3+} și de încorporare a Fe^{3+} în transferină este catalizat de o α_2-globulină care conține cupru — ceruloplasmina. În mecanismul biochimic de mobilizare a fierului din depozite intervine și xantinoxidaza (fig. 10.63). Absorb-

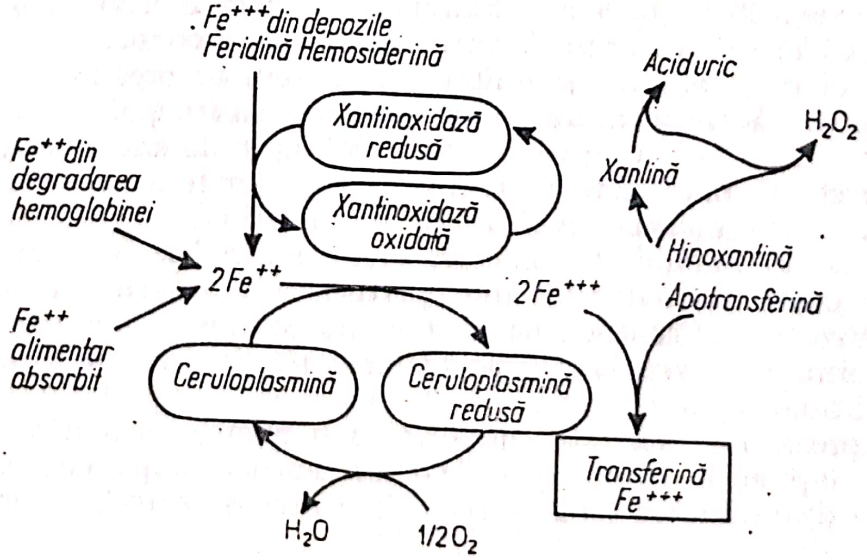


Fig. 10.63. Reprezentarea schematică a mecanismului biochimic de mobilizare a fierului din depozite mediat de xantinoxidază și a procesului de încărcare a fierului pe transferină, favorizat de ceruloplasmină.

Scanned with OKEN Scanner

ția fierului are loc zilnic, în cantități mici, deoarece fierul rezultat din distrugerea eritrocitelor este refolosit, în prezența cuprului, la formarea de hemoglobină. În cazul animalelor anemice absorbția fierului crește; o absorbție crescută se înregistrează la animalele gestante.

Eliminarea fierului are loc în cea mai mare parte prin fecale; se mai elimină în cantităţi mici prin lapte, iar în cazuri patologice prin urină (hemoglobinurie).

Rolul fierului în organism este aproape exclusiv legat de procesele de respirație celulară, intervenind prin combinațiile sale cu porfirinele în transportul și activarea oxigenului.

Anemia purceilor sugari este determinată de un aport insuficient; cerințele acestora se situează între 7 și 11 mg fier/zi, iar prin lapte primesc doar în jur de 1 mg/zi.

10.7.7. CUPRUL

Aproximativ jumătate din cantitatea totală de cupru existentă în organism se găsește în mușchi și oase; restul cuprului este localizat în special în ficat, rinichi, sistemul nervos central și hematii. Cuprul este constituentul unor enzime, cum sînt citocromoxidaza, uricaza, catalaza, tirozinaza, monoaminoxidaza, dihidroascorbatoxidaza etc. și este esențial pentru activitatea acestora; prin intermediul acestor enzime cuprul are un rol deosebit în metabolismul intermediar.

Absorbția cuprului are loc la nivelul intestinului, printr-un proces enzimatic complex. La rumegătoarele mari și mici molibdenul are un efect limitant asupra absorbției cuprului, efect care depinde de nivelul sulfului din ratie.

După absorbție cea mai mare parte a ionilor de cupru, fixați inițial în mod labil pe albuminele serice, sînt captați de ficat și încorporați în ceruloplasmina sintetizată la acest nivel. Spre deosebire de transferină, care este un adevărat transportor de fier, ceruloplasmina nu cedează țesuturilor cuprul, ci îl menține încorporat în structura ei. Cuprul este scos din circuitul metabolic, pînă cînd complexul este degradat în ficat; ulterior este eliminat pe cale biliară, respectiv intestinală. Eliminarea urinară reprezintă o fracțiune minimă, fapt ce se explică prin fixarea cuprului pe proteine.

Cuprul mărește gradul de utilizare a fierului în organism; o carență în cupru poate antrena anemia. La șobolanii tineri și la purceii supuși unei diete sărace în cupru (spre exemplu lapte de vacă) se dezvoltă o anemie hipocromă microcitară; anemia cu caracter feripriv și scăderea sideremiei la aceste animale evidențiază interrelațiile dintre metabolismul cuprului și cel al fierului. Fenomenele grave (animalele în final mor) din carența de cupru se datoresc unor perturbări ale sistemelor enzimatice, oxidoreducătoare, ce conțin cupru. Carența în cupru determină, de asemenea, deformări ale oaselor, depigmentarea părului și a lînii, defecte ale keratinizării lînii și părului.

Hipocuproza la miei este cunoscută sub numele de ataxia enzootică a mieilor; simptomele clinice apar de obicei imediat după fătare, fie ca o consecință a demielinizării totale a sistemului nervos central, fie prin hidrocefalie.

Hipercuproza, intoxicația cu cupru la ovine, poate fi consecința unei yatrogenii (depășirea dozelor de carbonat de cupru în tratamentul cestodozelor la tineretul ovin); intoxicația cronică a mieilor cu sulfat de cupru

Scanned with OKEN Scanner

poate apărea cînd se utilizează, în mod greşit, premixurile proteino-vitamino-minerale destinate purceilor în creştere, premixuri ce conţin între 150 şi 250 ppm Cu. Intoxicaţia se manifestă prin hipercupremie (la mamifere cupremia normală este cuprinsă între 0,8 şi 1,2 mg/l), prin anemie extremă în urma crizei hemolitice (cuprul intervine în hemoglobinogeneză, dar în cantităţi exagerate produce hemoliza), prin hemoglobinurie mai mult sau mai puţin evidentă. Trebuie menţionată importanţa profilactică a molibdatului de amoniu şi a sulfatului de sodiu, molibdenul şi sulfaţii fiind antimetaboliţi ai cuprului.

10.7.8. ZINCUL

Zincul este un element esenţial pentru om şi animale. Despre absorbţia zincului se cunosc puţine date. Zincul se interferează la nivelul tubului digestiv cu alte elemente minerale, care îi încetinesc absorbţia. La o creştere a calciului din raţie peste 1%, zincul nu poate fi utilizat; fitaţii acţionează în acelaşi mod. Eliminarea zincului din organism se face prin fecale şi urină.

Zincul este un component structural şi funcţional al carboxipeptidazei, anhidrazei carbonice, fosfatazei alcaline, alcooldehidrogenazei, a unor piridinnucleotiddehidrogenaze; zincul este în mod imperios necesar în sinteza ADN. Insulina conţine zinc în proporţie de 0,153%; se admite că zincul are un rol important în secreţia insulinei şi implicit în reglarea metabolismului glucidic. Prezenţa zincului în sperma vierilor şi berbecilor a fost semnalată de Vlădescu şi Buruiană. Conţinutul ridicat al zincului în spermă (15—22 mg%) a fost corelat cu intervenţia acestuia în procesele de reproducţie. Zincul protejează vitamina B_1 şi hormonii TSH şi LH, favorizînd fecundarea. Zincul intervine în menţinerea unei concentraţii normale în vitamine *A* la nivelul plasmei sanguine şi în mobilizarea normală a vitaminelor *A* din ficat.

Reglarea metabolismului zincului nu este pe deplin cunoscută. Suprarenalectomia creşte zincul hepatic cu 70%, fenomen care nu este afectat de aldosteron, dar este prevenit de cortizon. Paratiroidectomia creşte uşor zincul hepatic, în timp ce tiroxina îl scade. Mecanismele homeostatice sînt condiţionate de nivelul absorbţiei şi al excreţiei; astfel, la bovine, în caz de carenţă, se înregistrează o scădere a zincului din lapte şi o translocare mai rapidă a acestuia din hrană în lapte (după 6 săptămîni de depleţiune zincul din lapte reprezintă 91% din cel alimentar).

Hipozincoza este primară sau secundară (prin exces de calciu, cadmiu, acid fitic) şi se manifestă prin tulburări de creştere, de osificare, de reproducţie, dermatoză (parakeratoza la porc).

Intoxicaţia cu zinc este în general rară la mamifere şi păsări, fiind determinată de poluarea industrială, păstrarea alimentelor (a laptelui) în vase zincate etc. În hiperzincoză apare anemia, prin utilizarea mai slabă a cuprului şi fierului. La porci zincul oferă o protecţie considerabilă în intoxicaţiile cu cupru.

10.7.9. MANGANUL

Cantitatea totală de mangan din organism este inferioară celei de cupru sau de zinc — circa 0,00005% din masa corporală. Manganul absorbit, ajuns în sînge, se leagă de transferină, în prezenţa unui oxidant, care „in

Scanned with OKEN Scanner

vivo" este reprezentat de ceruloplasmină sau de oxigenul molecular; la păsări manganul este transportat spre ovocite de o fosfoproteidă — fosfovitina.

Manganul este eliminat prin fecale (mai ales prin excreție biliară), în proporție de 95—98%; principalul mecanism de control al homeostazei manganului este reprezentat de excreție.

Manganul este implicat în creștere, reproducție, dezvoltarea scheletului, în metabolismul glucidic și lipidic; intervine în sinteza mucopoliozidelor. Piruvatcarboxilaza este o metaloproteină care conține mangan, cu rol în procesele de transcarboxilare. Prin intermediul piruvatcarboxilazei Mn exercită efecte asupra gluconeogenezei, iar prin rolul său de activator al glicoziltransferazelor asupra sintezei de poliozide și glicoproteide, este posibil ca Mn să fie implicat în sinteza insulinei.

La toate speciile deficitul de mangan provoacă importante alterări ale oaselor; manganul nu este implicat în osteogeneză, ci în condrogeneză. S-a evidențiat o scădere a mucopoliozidelor; sinteza condroitinsulfatului necesită glicoziltransferaze Mn^{2+} dependente. La viței, la iezi născuți din mame carențate în mangan s-a evidențiat ataxie neonatală, pareze, paraplegii, deseori letale. La păsări carența naturală de mangan este cunoscută sub numele de perozis (peroză); carența de Mn în cursul dezvoltării embrionare a puilor are ca urmare apariția condrodistrofiei. Puii cu perozis în stadiile timpurii prezintă hipocalcemie, o creștere a activității fosfatazei alcaline; se remarcă o scurtare a oaselor lungi, lărgirea capetelor articulare, iar în cazurile severe o luxație a tendonului mușchilor gastrocnemieni la nivelul articulației tibiometatarsiene.

Manganul este considerat a fi unul dintre metalele cele mai puțin toxice. Acceptîndu-se că hipermanganoza este rară se relevă că bovinele suportă un nivel de 3000 ppm Mn, suinele 4000 ppm, iar păsările 4800 ppm. Manganul în exces determină reducerea sporurilor în greutate și scăderea cantității de hemoglobină, prin diminuarea absorbției fierului.

10.7.10. COBALTUL

Cobaltul este oligomineralul care se întîlnește în organism în cantitatea cea mai redusă, dar cu o activitate extrem de intensă. După Kolb și Gürtler, 1971, o vacă de 600 kg conține doar 0,6 g Co. Cu toate că nu există țesut care să cumuleze Co, în concentrație relativ mai mare acesta este întîlnit în ficat, rinichi și oase; în ficat majoritatea cobaltului se află sub formă de vitamină B_{12}. Între concentrația în vitamină B_{12} din ficat și cea din peretele ruminal există o corelație pozitivă, ultima reprezentînd aproximativ 10% din cea hepatică. Concentrația sanguină a cobaltului este extrem de variabilă.

La toate speciile de animale, după administrarea orală, doar o mică fracțiune a Co se absoarbe; la vaci 80% se elimină prin fecale, 0,5% prin urină. Cobaltul absorbit se distribuie relativ repede în țesuturi, mai ales în ficat și rinichi. O serie de date pledează pentru o cale comună de absorbție a cobaltului și fierului.

La rumegătoare principalul rol al cobaltului constă în participarea la biosinteza vitaminei B_{12}; producerea acesteia de către simbionți este condiționată de o anumită concentrație de Co (sub 0,5 mg/ml lichid ruminal biosinteza încetează). În cazul schimbării rației alimentare biosinteza rumi-

Scanned with OKEN Scanner

nală de vitamină B_{12} este redusă timp de 5—6 zile. Numai 3—5% din cobalamina sintetizată în rumen este absorbită, restul fiind excretată. În afară de cobalamină în țesuturi se găsesc și precursori ai cobalaminei, numiți corinoizi. Cobalamina este esențială pentru sinteza acidului timonucleic, necesar în eritropoeză; efectul cobaltului asupra hematopoezei pare să fie dependent de prezența cuprului și fierului.

Carența de cobalt la rumegătoare (marasmul enzootic) se manifestă prin inapetență, scăderea greutății corporale, paloarea extremă a mucoaselor aparente; se instituie o anemie hipocromă și normocitară la miei, hipocromă și microcitară la viței. Hipocobaltoza reprezintă de fapt o hipovitaminoză B_{12}, care generează tulburări ale digestiei ruminale, valorificarea redusă a acidului propionic rezultat (scade eficiența de convertire a propionatului către succinat, proces care reclamă prezența vitaminei B_{12}), precum și tulburări de hematopoeză; apar, de asemenea, tulburări ale proceselor de reproducție (hipofuncție ovariană, infecunditate, avorturi și fătări premature).

Sărurile de cobalt sînt puțin toxice. Administrat în cantități mari Co anihilează unele verigi ale lanțului oxidoreducător și înlocuiește Mn în unele sisteme enzimatice, pe care astfel le inhibă. Cobaltul în exces provoacă policitemie la toate speciile, exceptînd rumegătoarele adulte, însoțită de hiperplazia măduvei osoase, reticulocitoză, creșterea volemiei. Alterările miocardice provocate de excesul de cobalt sînt însoțite de creșterea concentrației tisulare și implicit a celei cardiace în cobalt.

10.7.11. SELENIUL

Seleniul este răspîndit în organism în cantități mici (1—3 ppm), fiind asociat cu proteinele din ficat, lapte, spermă sub formă de selenocistină și selenometionină. O concentrație relativ mare în seleniu prezintă corticosuprarenala, placenta și fetusul.

Seleniul este un component esențial al enzimei glutation-peroxidaza sau glutation: H_2O_2 — oxidoreductaza (prescurtat GSH-Px). Acest fapt a fost demonstrat, printre alții, de Rotruck și colab., 1973, prin experiențe cu ^{75}Se administrat la șobolani; după 2—4 săptămîni, prin izolarea glutation-peroxidazei din eritrocite, s-a constatat că cea mai mare parte a ^{75}Se din eritrocite era prezentă în GSH-Px. Enzima, izolată în cantități mari din eritrocitele de oaie și de bou, conține 4 moli Se per mol proteină. Este cunoscut faptul că glutationul redus (G—SH) joacă un rol important în menținerea integrității membranei, în mod deosebit în cazurile de stress de oxidare. Efectul protector exercitat de G-SH în globulul roșu se datorează intervenției acestuia în descompunerea H_2O_2 și a peroxizilor acizilor grași, prin reacția catalizată de GSH-Px. Seleniul, în calitate de component a GSH-Px, catalizează descompunerea H_2O_2, a hidroperoxizilor lipidici (R—O—OH) și a altor hidroperoxizi, în timp ce vitamina E previne (diminuează) formarea hidroperoxizilor lipidici și oxidarea cisteinei la cistină, ca precursor al glutationului. Deci vitamina *E* are rol antioxidant al lipidelor, diminuînd formarea de hidroperoxizi lipidici și în felul acesta favorizează alte căi metabolice ale precursorilor hidroperoxizilor. Degradarea hidroperoxizilor pare a fi funcția majoră a GSH-Px, deoarece se știe că în organism acționează un alt sistem, catalizat de catalază, care asigură descompunerea H_2O_2. În figura 10.64 se prezintă interrelațiile posibile ale Se și vitaminei *E*.

Seleniul, în cantități foarte mici, este un factor esențial în respirația tisulară; formează, probabil, un sistem redox, participînd astfel la transferul de electroni. De asemenea, este posibilă o relație între Se și așa—numitul

Scanned with OKEN Scanner

„factor 3" al lui Schwartz, factor protector împotriva unei necroze hepatice produse la șobolani prin mijloace dietetice. În mușchi s-a identificat o selenoproteină cu proprietăți de citocrom. Seleniul participă și în sistemul microzomal hepatic, intervenind în catalizarea reducerii citocromului **c** prin glutation.

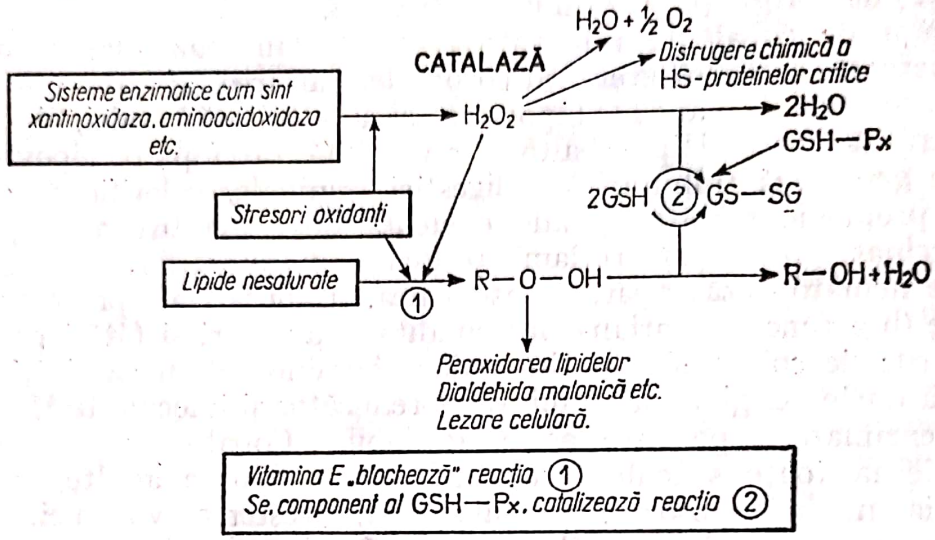


Fig. 10.64. Interrelațiile posibile ale Se și vitaminei *E*.

Hiposelenoza este un factor care contribuie, alături de lipsa de vitamine *A* sau de reducerea vitaminelor *E* în substraturi, la generarea unor miodistrofii scheletice și cardiace, la mamifere și păsări; distrofia musculară (boala mușchiului alb) este mai frecventă la miei și la viței. Hepatoza dietetică a porcului (necroza ficatului) apare la purceii tineri, hrăniți cu rații sărace în vitamina *E* și în seleniu; o etiologie asemănătoare se întîlnește în diateza exsudativă a puilor.

Intoxicația cu seleniu (selenoza) apare cînd furajele conțin peste 5 ppm seleniu. În condiții naturale, singurele specii susceptibile să facă intoxicația cu seleniu sînt erbivorele, prin consumarea unor plante bogate în seleniu; unele specii de *Astragalus* conțin pînă la 1 000 ppm Se. Selenoza naturală este posibilă și prin consumul plantelor obișnuite, în condițiile existenței în sol a unor concentrații mari de compuși cu mare asimilabilitate a seleniului. Toxicitatea s-ar datora substituirii sulfului din proteine și inhibării enzimelor implicate în respirația celulară.

10.7.12. FLUORUL

Încadrarea fluorului în categoria oligoelementelor esențiale este o problemă controversată; sînt bine cunoscute însă efectele nocive exercitate de către acest oligoelement asupra omului și animalelor, mai ales în cazul fluorozei cronice.

Țesuturile nemineralizate reține o cantitate extrem de redusă din fluorul existent în organism; în schimb țesuturile mineralizate (schelet, dinți) stochează cantități importante de fluor. În circulație este menținut la un nivel destul de stabil, în general sub 1 ppm, atît prin depunerea în schelet, cît și prin creșterea excreției urinare; fluorul plasmatic se găsește sub formă ionică, precum și legat (la bovine este fixat de o substanță ultrafiltrabilă neidentificată și de lipidele plasmatice). Cantitatea de fluor care trece în lapte, chiar în cazul expunerii femelelor în lactație unui aport excesiv sau prelungit, este extrem de redusă.

Scanned with OKEN Scanner

Aportul principal de fluor (peste 90%) se realizează prin furaje, iar absorbția depinde în cel mai înalt grad de solubilitatea compușilor (fluorura de sodiu, solubilă, se absoarbe în proporție de 80--90%). Captarea fluorului din sînge de către schelet este deosebit de rapidă, pînă în momentul saturării acestuia, după care rata de retenție diminuează; aceeași rată este mai mică la animalele în vîrstă, comparativ cu cele tinere. Ionul de fluor este integrat în hidroxilapatit; are loc un schimb cu ionul OH^-. Cantitățile mari de F au proprietatea de a stimula reconstrucția și mineralizarea oaselor, probabil prin creșterea activității osteoblastelor și scăderea activității osteoclastelor. Captarea fluorului de către dinți are loc, în principal, în cursul formării acestora.

Principala cale de excreție a fluorului este cea urinară; ovinele, bovinele elimină prin urină 50—90% din F ingerat. În cazul compușilor insolubili predomină eliminarea prin fecale.

În ceea ce privește toleranța la fluor păsările sînt mai rezistente decît mamiferele, iar omnivorele decît erbivorele. La bovine limita toleranței este de 30—40 ppm (aportul normal prin furaje este de 15 ppm); în general, declanșarea fluorozei este urmarea unei ingestii prelungite, de ani de zile. Sărurile de aluminiu, calciul, fosforul reduc toxicitatea fluorului.

Ingestia de fluor în cantități toxice poate avea loc în zone restrînse, unde animalele consumă apă cu un mare conținut de F, provenit din rocile fosfatice; în cazul suplimentării rației cu fosfați naturali, care nu au fost defluorinați; în cazul poluării industriale, cel mai frecvent întîlnită.

Cantitățile relativ mici ingerate de bovine, în cazul expunerii cronice, conduc la instituirea fluorozei dentare și/sau o osteofluorozei. La ovine intoxicația cronică se manifestă, în principal, sub formă dentară. Modificările enzimatice caracteristice în fluoroză sînt reprezentate de o creștere a activității fosfatazei alcaline în sînge și os.

10.7.13. IODUL

Iodul este un element indispensabil pentru organismul animal. Tiroida are o afinitate deosebită pentru iod — conține aproximativ 20% din tot iodul existent în organism. În rest iodul este depozitat în mușchii scheletici (unde favorizează glicogenoliza prin activarea fosforilărilor), în hipofiză, în ovare etc. Eliminarea se face prin urină (aproximativ 60%), prin fecale și sudoare.

În procesele metabolice iodul intră în relații sinergice sau antagoniste cu diferite elemente minerale și substanțe organice; spre exemplu fluorul împiedică depozitarea iodului, ca dealtfel și calciul în exces.

La animale iodul favorizează creșterea tineretului, producția de lapte, funcțiile de reproducție, mărește numărul total de eritrocite, cantitatea de hemoglobină etc.

Metabolismul major al iodului are loc în glanda tiroidă; în etiologia stărilor de hipotiroidie se menționează, în primul rînd deficitul de iod. Carența în iod este dependentă, în principal, de insuficiența aportului alimentar (hipoiodismul primar); a fost demonstrată prin instalarea tulburărilor caracteristice și efectele terapiei iodate. Reducerea secreției hormonilor tiroidieni este acompaniată de simptome și efecte generate de importanța metabolică a acestor hormoni.

Iodul în exces reduce captarea tiroidiană a iodului marcat, avînd deci o acțiune antitiroidiană. Excesul de iod în hrana găinilor ouătoare (312—5 000 ppm) sistează producția de ouă, reduce procentul de ecloziune, crește

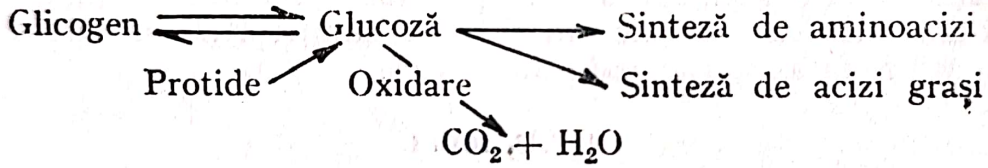
Scanned with OKEN Scanner

mortalitatea embrionară. Intoxicațiile cu iod la bovine sînt aproape fără excepție, consecința administrării în scop terapeutic a sărurilor de iod; în forma cronică de „iodism" animalele manifestă inapetență, scăderea producției de lapte, stare febrilă etc. Toxicitatea iodului la porcine pare să fie mai redusă decît la alte specii.

10.8. CORELAȚII ÎNTRE METABOLISMELE INTERMEDIARE

Deși metabolismul intermediar al glucidelor, lipidelor și protidelor a fost tratat separat, urmărind un scop doar didactic, el are un caracter unitar. Acest fapt poate fi reliefat prin aceea că cele trei clase de substanțe au ca produși finali ai catabolizării CO_2, H_2O, NH_3 și diferiți produși de excreție. Totodată, în procesul de catabolizare se formează diferiți compuși, dar care sînt comuni și anume: acetilcoenzimă A, acid piruvic, acid oxalilacetic și alții, iar calea de catabolizare a majorității compușilor converge de numeroase ori spre ciclul ATC, prin intermediul căruia se realizează trecerea acetil-CoA în CO_2 și hidrogen activat (NADH, NADPH și $FADH_2$), precum și formarea de substrate noi pentru diferite biosinteze. Dehidrogenazele reduse rezultate sînt reoxidate prin procesul oxidării terminale de către oxigenul luat din atmosferă, cu formarea de apă și eliberarea de energie. Punctul comun cel mai general al corelației constă în aceea că toate procesele catabolice și anabolice se petrec sub acțiunea enzimelor.

Întrucît pentru organismele animale glucidele sînt sursele principale de energie, de CO_2 și de H_2O, corelația cu celelalte tipuri de substanțe poate fi redată astfel:



Dioxidul de carbon este un compus care apare în toate formele de viață. El apare în procese de catabolizare, dar este și un compus necesar în biosinteze. Un animal produce în 24 de ore între 1 000 — 2 000 g CO_2, din care o parte este utilizat în biosinteze prin reacții de carboxilare, în gluconeogeneză și în formarea acizilor grași pe calea malonil-CoA.

Prin intermediul acetil-CoA se poate ajunge la glucide, lipide, hormoni steroidici, colesterol, vitamine, glicolipide etc., iar acetil-CoA provine atît din catabolismul glucidelor, al lipidelor, cît și al protidelor. Apare în acest fel clar problema interconexiunii căilor metabolice.

O imagine în ansamblu asupra corelației metabolismului intermediar este redat în figura 10.65.

Desigur că existența corelației este confirmată nu numai la CO_2 și la compușii organici, ci și la alte substanțe organice. Astfel, amoniacul care este un produs de catabolizare, constituie totodată și un substrat de biosinteză, atît în aminări reductive, cît și ca azot aminic de rezervă în glutamină și aspargină.

10.9. TESTE DE VERIFICARE

1. Catena oxidării terminale are mai multe etape. Se cere să se scrie:
— reacția globală a oxidării terminale;
— care sînt ionii ce se formează în timpul oxidării terminale;

Scanned with OKEN Scanner

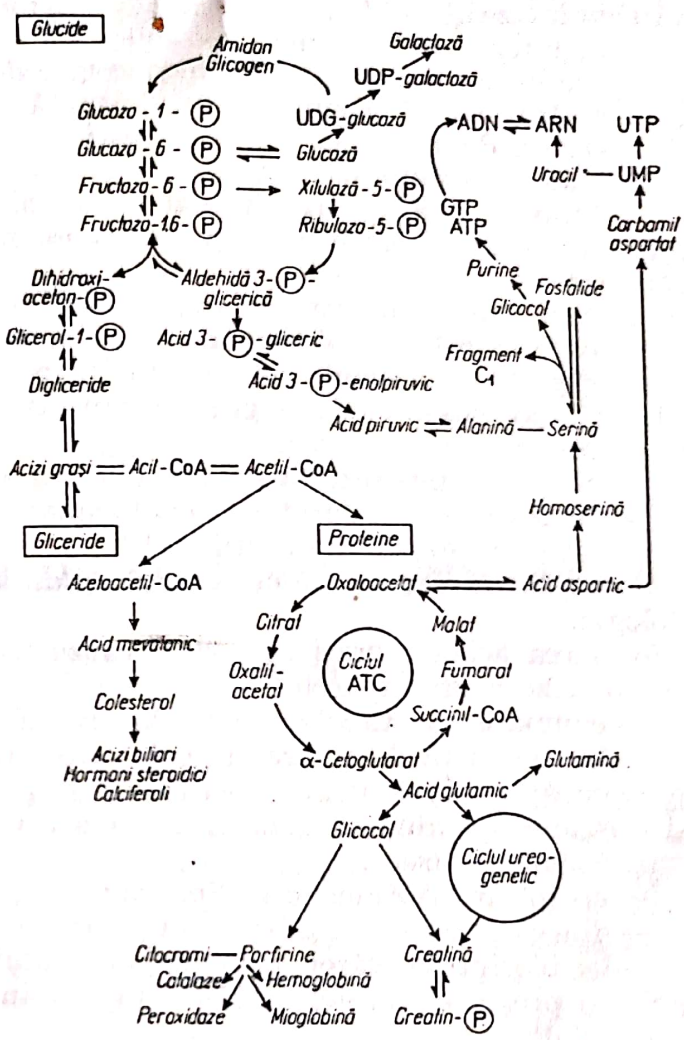


Fig. 10.65. Corelaţii între metabolismul intermediar al glucidelor, lipidelor şi protidelor.

— care este ecuaţia chimică prin care se cuplează oxidarea terminală cu oxidarea fosforilantă?

2. Ciclul ATC începe şi se încheie cu acidul oxalilacetic. Se cere să se precizeze următoarele:

— cel puţin trei surse metabolice ale acidului oxalilacetic;

— care sînt compuşii din ciclul ATC utilizaţi de organism în metabolismul aminoacizilor?

— în ce direcţii este utilizat CO_2 rezultat?

— cîte molecule de ATP se formează prin oxidarea completă a unui mol de acid acetic?

— cîţi moli de ATP rezultă prin oxidarea completă a unui mol de glucoză?

3. În catabolizarea glucidelor sînt cunoscute o varietate de căi şi de produşi. Se cere să se precizeze:

— care sînt căile principale de catabolizare a glucozei şi produşii finali? Dar ai glicogenului?

— care este bilanţul energetic al glicolizei?

— prin ce reacţie este scindat glicogenul?

— pe ce cale pot fi transformate hexozele în pentoze şi invers, adică pentozele în hexoze?

— pe ce cale se formează acidul ascorbic?

Scanned with OKEN Scanner

4. În biosinteza glicogenului se fixează cîte un mol de UDP-glucoză. Se cere să se:
— schițeze un mecanism posibil;
— ce compuși participă în gliconeogeneză.
5. În cadrul metabolismului glucidelor să se facă următoarele precizări:
— calea de formare a deoxiribozei;
— calea biosintetică a lactozei;
— cum se explică apariția diabetului zaharat.
6. În catabolizarea acizilor grași se cunosc mai multe căi. Să se precizeze următoarele:
— care cale predomină în organismele animale;
— care este forma activă a acizilor grași;
— cîți moli de acetil-CoA rezultă la catabolizarea acidului stearic.
7. La catabolizarea acizilor grași ramificați rezultă și alți compuși decît acetil-CoA. Să se precizeze:
— ce alt compus rezultă la catabolizarea acizilor α-ramificați?
— ce alți compuși rezultă la catabolizarea acizilor β-ramificați?
— care este destinația acetil-CoA?
— ce se înțelege prin cetogeneză și dacă cetogeneza este sau nu un caz patologic.
8. Formarea acizilor grași se poate realiza în organismele animale. Se cere să se precizeze următoarele:
— enumărarea etapelor ce au loc în calea malonil-CoA;
— în ce constă deosebirea în calea elongației de cea a malonil-CoA;
— ce tipuri de acizi grași nesaturați se pot forma în organismul animal.
9. În organismul animal trigliceridele joacă un rol important. Se cere să se precizeze următoarele:
— ce rol are AMPciclic în lipoliză?
— din ce precursor se formează glicerofosfatul?
— la biosinteza căror compuși este utilizat glicerofosfatul?
10. Să se prezinte formele active în biosinteza glicerofosfolipidelor și a sfingolipidelor.
11. Să se precizeze care sînt căile generale de catabolizare a aminoacizilor, precum și modul de fixare a amoniacului în organismul animal.
12. Să se propună o cale metabolică de transformare a treoninei la glicocol și acid succinic.
13. Să se scrie structura produșilor de catabolizare ai triptofanului care pot fi eliminați prin fecale și urină.
14. În ce constau dereglările metabolice:
— albinismul;
— alcaptonuria.
15. Să se definească:
— ciclul Shemin;
— porfiriile;
— uroporfirinele;
— ciclul enterohepatic al bilirubinei.
16. Descrieți calea biosintetică a CTP și a componentelor sale.
17. Definiți ce înțelegeți prin replicare semiconservativă.
18. Biosinteza proteinelor se realizează pe o cale complexă. În legătură cu aceasta se cer următoarele:
— ce se înțelege prin transcrierea mesajului genetic;
— care este forma activă a aminoacizilor;
— care este structura unui AA-*t*ARN;
— explicați inițierea formării catenei polipeptidice.

Scanned with OKEN Scanner

11

BAZELE BIOCHIMICE ALE CONTRACȚIEI MUSCULARE

11.1. CONSIDERAȚII GENERALE

La vertebratele superioare, țesutul muscular constituie aproximativ 40% din masa corporală. Musculatura striată (voluntară) este implicată în asigurarea deplasării în mod autonom, în mișcarea diferitelor părți ale corpului și în reglarea poziției acestuia. Mușchiul reprezintă un țesut specializat a cărei organizare structurală este strîns corelată cu funcția sa de contracție ce se produce pe cale reflexă. Ceea ce denumim în mod atît de simplu contracție musculară constituie, în realitate, un angrenaj extrem de complex realizat prin cooperarea intimă a mai multor sisteme structurale, ca de exemplu: elemente celulare nervoase care inervează fibrele musculare; sisteme de membrane interne care brăzdează fibrele musculare cu rol în activitatea aparatului contractil și în instalarea mecanismelor de relaxare; sarcoplasma și sarcozomii ca sedii ale proceselor furnizoare de energie utilizabilă în contracție; sistemul de filamente proteice actomiozinice reprezentînd dispozitivul contractil propriu-zis.

Definită în accepțiunea sa biochimică, contracția musculară — reflectată în fenomenul de mișcare sub diverse aspecte — constituie ansamblul reacțiilor mecanochimice care se petrec în cadrul acestor sisteme structurale, și anume: reacții care intervin înaintea activității contractile condiționînd stimularea mușchiului; reacții care se petrec în cursul contracției generînd fenomenele mecanice; reacții de refacere a rezervelor energetice consumate; reacții care contribuie la instalarea relaxării. Suma acestor reacții interdependente, dintre care unele se pot desfășura simultan, reprezintă baza performanței întregului sistem.

11.2. ULTRASTRUCTURA MIOFIBRILELOR

Țesutul muscular striat este constituit din formațiuni denumite fibre musculare cu lungimi variabile cuprinse între 1 mm și 12 cm. Fiecare fibră constă dintr-un mănunchi de mai multe *miofibrile* dispuse paralel și incluse într-un fluid intracelular denumit sarcoplasmă. La rîndul lor, miofibrilele

Scanned with OKEN Scanner

sînt constituite din șiruri ordonate de *miofilamente* proteice care reprezintă elementele contractile ale mușchiului striat și care se extind pe întreaga lungime a fibrei. O imagine schematică a dispunerii componentelor contractile și a microstructurii miofibrilei este redată în figurile 11.1 și 11.2.

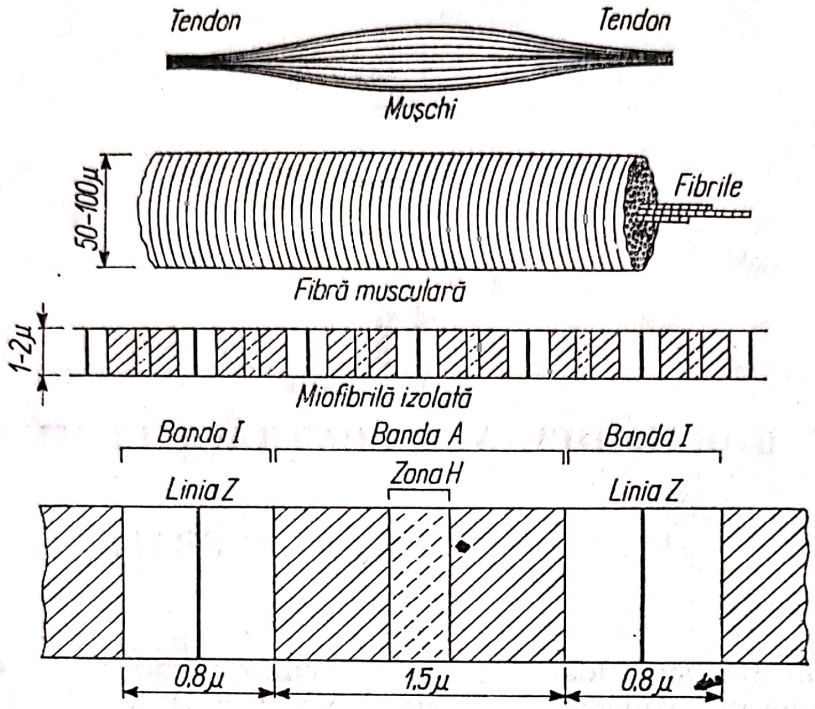


Fig. 11.1. Reprezentarea schematică a dispunerii componentelor contractile ale mușchiului striat.

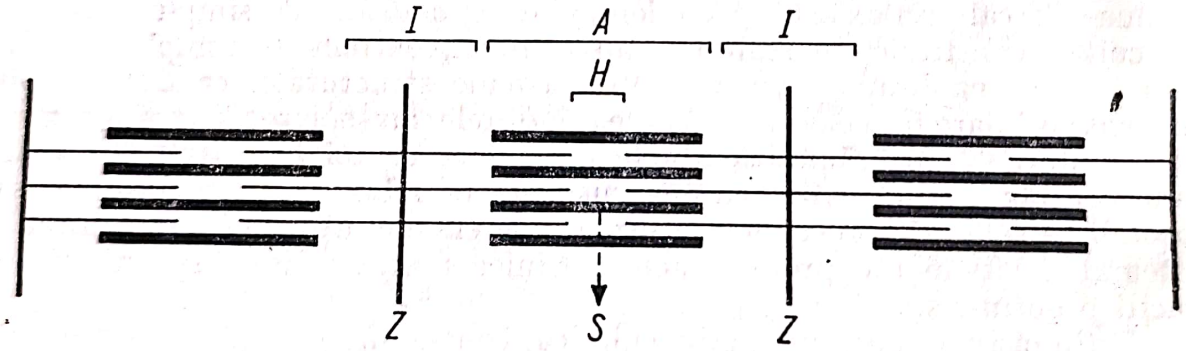


Fig. 11.2. Reprezentarea celor două tipuri de filamente proteice ale miofibrilei (semnificația notațiilor este prezentată în text).

Imaginea microscopică a unei miofibrile relevă existența unor striuri optic neomogene care indică o alternanță a unor regiuni mai dense denumite *benzi A* (*A*nizotrope) și a unor regiuni mai puțin dense și birefringente denumite *benzi I* (*I*zotrope). În porțiunea centrală a benzilor *A* se delimitează o zonă îngustă și mai puțin densă denumită *zona H*, caracterizată printr-o mare elasticitate și printr-o densitate optică mai scăzută. Benzile I realizează joncțiunea dintre două benzi *A* și sînt bisectate de așa-numita *linie Z* compusă din material dens și amorf.

Unitatea morfologică și funcțională a mușchiului striat care determină periodicitatea în direcția longitudinală a miofibrilei este *sarcomerul* cuprins între două linii *Z*. În mijlocul sarcomerului se află amplasată banda *A* care include și zona *H*.

Scanned with OKEN Scanner

În structura miofibrilei se disting două tipuri de filamente proteice dispuse paralel cu axa acesteia, și anume: *filamente groase* constituite din proteina denumită *miozină* și *filamente subțiri* constituite în majoritate din proteina denumită *actină*, precum și din proteinele *tropomiozină* și *troponină* în proporție mai mică. Cîte un segment din filamentele subțiri pătrunde printre filamentele groase pînă la nivelul zonei *H*, în dreptul căreia filamentele subțiri stabilesc între ele o legătură printr-un alt filament extrem de fin și extensibil denumit filamentul *S*. Rezultă astfel că la nivelul fiecărei jumătăți a benzilor *A* se creează o întrepătrundere (alternare) între filamentele subțiri de actină și filamentele groase de miozină.

În ultrastructura miofibrilei se distinge și existența unui sistem de așa-numite „punți" care apar la anumite intervale de-a lungul filamentelor groase și care reprezintă pozițiile de interacțiune ale miozinei cu actina. Filamentele groase prezintă astfel, aproape perpendicular pe axa lor, asemenea punți sau proiecții laterale scurte și regulat distribuite ce sînt îndreptate către filamentele subțiri pe care par să le atingă în regiunile unde acestea pătrund în rîndul filamentelor groase.

11.3. COMPOZIȚIA CHIMICĂ A MUȘCHIULUI STRIAT

Țesutul muscular striat este constituit în medie din 75% *substanțe anorganice* reprezentate prin apă (72—74%) și săruri minerale (aproximativ 1%) și din 25% *substanțe organice* reprezentate prin proteine (20%), glucide (3%) și lipide (1—3%).

Apa constituie mediul biologic de reacție în care se desfășoară anumite procese biochimice, iar diferitele elemente chimice (Na, K, Ca, Mg, P, Cl) participă în procesele de excitabilitate musculară (K, Na) și ca activatori sau inhibitori ai sistemelor enzimatice intramusculare (Ca, Mg) implicate în contracție.

Dintre substanțele organice, proteinele miofibrilare constituie substratul material al contracției, iar glucidele, lipidele și unii compuși macroergici (ATP, creatinfosfatul) reprezintă surse generatoare de energie chimică implicate în contracția musculară.

11.3.1. PROTEINE MUSCULARE

Componenta majoră a miofibrilelor o constituie proteinele care, în funcție de proprietățile și rolul lor, se integrează în următoarele două categorii: proteine miofibrilare (structurale) și proteine sarcoplasmatice (solubile).

Proteinele miofibrilare. Sînt localizate în miofibrile, contribuie la organizarea filamentoasă a mușchiului și participă direct în procesul mecanochimic al contracției. Tipurile principale de proteine miofibrilare sînt următoarele:

Miozina. Este cea mai abundentă proteină musculară, reprezentînd 50—55% din conținutul proteic total al miofibrilei. Este localizată la nivelul benzilor *A* ale sarcomerelor, intrînd în constituția filamentelor groase ale miofibrilelor. Molecula prezintă o formă mixtă — globulară și fibrilară — și o masă moleculară foarte mare (5.10^5). Ca structură, molecula de miozină este asimetrică, fiind constituită din două regiuni globulare (*G*) de care se atașează două lanțuri polipeptidice identice, dispuse dublu-elicoidal într-o conformație de tip α-helix; în jurul fiecărei regiuni globulare sînt amplasate patru lanțuri polipeptidice (*L*) cu mase moleculare mici (fig. 11.3).

Scanned with OKEN Scanner

Molecula miozinei poate fi clivată enzimatic (prin tripsină) în două componente de mărime inegală denumite: meromiozina „grea" (HMM) și meromiozina „ușoară" (LMM).

Miozina posedă două proprietăți esențiale și anume: a) manifestă *activitate enzimatică* (ATP-azică), avînd capacitatea de a cataliza scindarea hidrolitică a moleculei de ATP cu eliberare de energie: $ATP + H_2O \xrightarrow{\text{Miozină}} ADP + H_3PO_4 +$ + Energie; b) manifestă capacitatea de a se combina reversibil cu o altă proteină miofibrilară — actina — formînd complexul proteic denumit *actomiozină*: $\text{Miozină} + \text{Actină} \overset{ATP}{\rightleftharpoons} \text{Actomiozină}$. Ambele proprietăți, care conferă miozinei un rol esențial în procesul contractil, sînt asociate cu fragmentul HMM, respectiv cu regiunea globulară a moleculei; de asemenea, punțile ce se stabilesc în contracție între filamentele groase de miozină și filamentele subțiri de actină sînt reprezentate de componenta HMM. Cele patru lanțuri ușoare (*L*) aferente regiunii globulare se presupune că funcționează ca modulatori ai activității ATP-azice a miozinei.

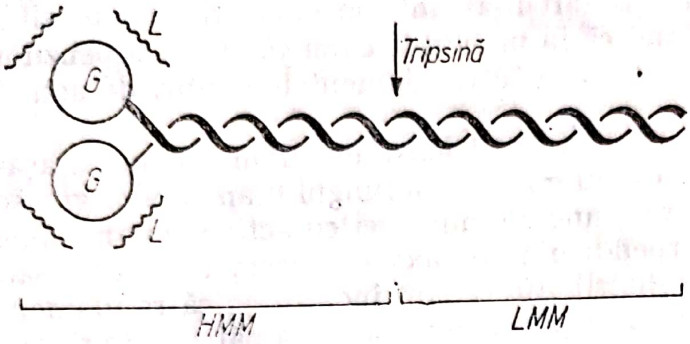


Fig. 11.3. Modelul molecular al miozinei:
G — componente globulare; *L* — lanțuri polipeptidice ușoare; *HMM* și *LMM* — meromiozine.

Actina. Reprezintă 20—25% din conținutul proteic total al miofibrilei și este localizată la nivelul filamentelor subțiri. Ca structură, actina se prezintă în două forme configurationale: o formă globulară (*G*-actina) și o formă fibrilară (*F*-actina) capabile să se transforme reversibil. Moleculele de *G*-actină se comportă ca monomeri care pot polimeriza formînd un agregat molecular constituit din filamente lungi de *F*-actină cu o conformație dublu-elicoidală (fig. 11.4). Tranziția *G*-actinei la forma polimerizată *F*-actină este dependentă de ionii Mg^{2+} și însoțită de hidroliza ATP la ADP și P_i.

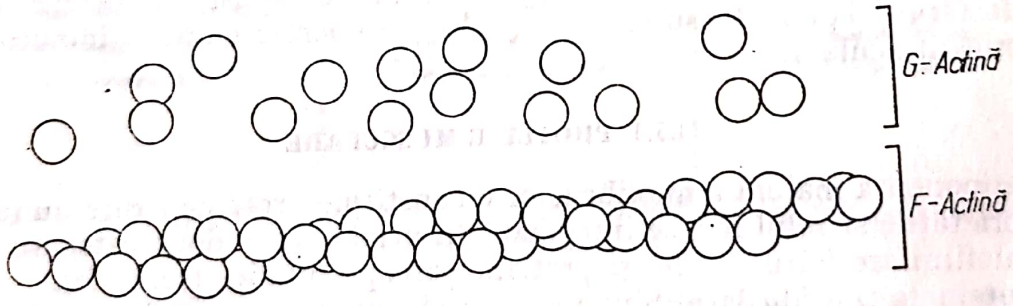


Fig. 11.4. Modelul molecular al actinei.

Actina manifestă două proprietăți esențiale, și anume: capacitatea de a *polimeriza* și capacitatea de a se combina reversibil cu miozina din filamentele groase adiacente pentru a forma complexul *actomiozina*.

Tropomiozina. Reprezintă aproximativ 10% din conținutul proteic total al miofibrilei. Este dispusă în filamentele subțiri, însoțind zonele de localizare ale actinei. Moleculele au o formă fibrilară și prezintă o structură dublu-elicoidală (α—helix), fiind interpuse între două filamente de *F*-actină. Posedă însușirea de supercontracție și contribuie la menținerea pe o perioadă mai lungă a mușchiului într-o stare contractată.

Scanned with OKEN Scanner

Troponina. Este o proteină fibrilară constituită din trei lanțuri polipeptidice, strîns asociată cu tropomiozina. I se atribuie un rol reglator allosteric, fiind implicată în legarea calciului. De asemenea, troponina exercită și un anumit rol în interacțiunea dintre tropomiozină și *F*-actină, interacțiune care are o importanță fundamentală pentru funcția filamentelor subțiri ale miofibrilei.

Proteinele sarcoplasmatice. Reprezintă un ansamblu de proteine solubile (denumite generic „miogen") localizate în sarcoplasmă, respectiv în spațiul celular în care sînt dispuse miofibrilele. În majoritatea lor (2/3), sînt enzime ale sistemului glicolitic, participînd la generarea ATP pe cale anaerobă („glicoliza sarcoplasmatică").

Mioglobina este o hemproteidă musculară cu proprietatea de a fixa reversibil oxigenul molecular (oximioglobină); ea constituie o importantă rezervă locală de oxigen necesar desfășurării proceselor biochimice de degradare oxidativă prin care se generează energie (ATP).

11.4. SURSELE DE ENERGIE ALE CONTRACȚIEI MUSCULARE

Fibra musculară striată — structură specializată pentru producerea de lucru mecanic — necesită existența unor surse de energie pentru realizarea performanței sale.

Sursa directă și imediată de energie utilizabilă de către fibra musculară este ATP-ul, capabil să declanșeze contracția și, implicit, să pună în mișcare întregul aparat contractil. Cantitatea de ATP din mușchi este însă mică și suficientă numai pentru a realiza contracții pe durate scurte de timp.

Rezervele de ATP necesare contracției musculare, respectiv energia utilizabilă conservată în ATP derivă din energia chimică conținută în molecula de creatinfosfat bogată în energie, precum și din anumite molecule care servesc drept combustibil (glucide, acizi grași și chiar unii aminoacizi). Transformările biochimice pe care le sufăr acestea determină, în ultima analiză, treapta biochimică producătoare de energie care este cuplată cu sinteza de ATP.

Reacțiile biochimice generatoare de ATP se petrec în cadrul a două faze — anaerobă și aerobă — care asigură producerea în permanență de ATP necesar furnizării de energie pentru manifestarea actului contractil.

Faza anaerobă include următoarele reacții de regenerare sau de formare de ATP.

a) *Reacția Lohman.* Mușchiul striat beneficiază de prezența unor cantități apreciabile de *creatinfosfat* (CP), compus macroergic care posedă un potențial de transfer al grupării fosfat mai mare decît ATP. În consecință, CP servește ca rezervor de energie care poate dona ADP-ului o astfel de grupare cu energie înaltă (8,5 Kcal/mol) pentru a regenera ATP-ul scindat în cursul contracției musculare; CP nu furnizează direct energie pentru contracție, ci are rolul numai de a asigura menținerea concentrației de ATP necesară pentru aportul direct de energie în contracție:

$$CP + ADP \rightleftharpoons ATP + C \text{ (creatină)}$$

Prin această reacție (reacția Lohman), catalizată de enzima ATP-creatin transfosforilaza, se asigură o regenerare rapidă de ATP în condiții anaerobe. Reacția este reversibilă, astfel încît resinteza CP devine posibilă în condițiile în care concentrația de ATP crește, creîndu-se o disponibilitate de ATP în

Scanned with OKEN Scanner

timpul perioadei de recuperare. Concentrația de ATP acționează astfel ca un factor de reglare a reacției Lohman. În contracția musculară, scindarea CP nu se poate petrece înainte de a fi scindat ATP. Hidroliza enzimatică a ATP cu producerea de ADP și P_i este prima reacție furnizoare de energie pentru contracția musculară:

$$ATP \xrightarrow[ATP\text{-}aza]{Miozin} ADP + H_3PO_4 + \text{energie (7,4 Kcal)}$$

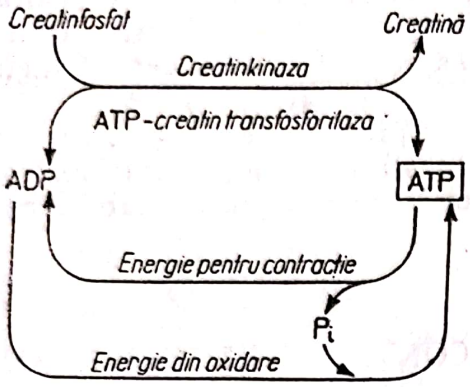


Fig. 11.5. Schema relației dintre creatinfosfat și ATP în contracția musculară.

Relațiile corelative dintre scindarea și refacerea CP și a ATP sînt redate în figura 11.5.

b) *Glicoliza sarcoplasmatică.* Glucidele constituie sursa principală și primordială de energie pentru contracția musculară. Glucoza liberă sau cea provenită din fosforoliza glicogenului muscular este catabolizată în condiții anaerobe pînă la stadiul de acid lactic cu eliberare de energie chimică stocată sub formă de ATP. Localizată la nivelul sarcoplasmei, glicoliza anaerobă include ansamblul de reacții succesive reprezentat prin următoarea ecuație globală:

$$\underset{\text{(glucoză)}}{C_6H_{12}O_6} + 2\,ADP + 2\,H_3PO_4 \rightarrow 2\,\underset{\text{(acid lactic)}}{CH_3{-}CHOH - COOH} + 2\,ATP$$

Rezultă astfel că prin degradare anaerobă, dintr-o moleculă de glucoză se obțin două molecule de ATP. Deși randamentul glicolizei anaerobe în generarea de ATP este relativ mic, ea reprezintă totuși o cale imediată, rapidă pentru furnizarea unei rezerve principale de ATP necesar activității musculare. În contracții susținute, de mai lungă durată, acumularea de acid lactic induce o scădere a valorii *p*H-ului și implicit o diminuare a scindării enzimatice a ATP, procese asociate cu așa-numitul fenomen de „oboseală musculară".

c) *Reacția miokinazei.* În anumite condiții în care regenerarea sau furnizarea imediată de ATP pe calea CP și respectiv a glicolizei devin critice ca urmare a unor contracții intense sau de lungă durată, țesutul muscular poate apela la o altă posibilitate de generare a ATP datorită intervenției enzimei miokinaza (adenilat kinaza). Această enzimă catalizează transferul unei grupări fosforil bogată în energie de la o moleculă de ADP la alta pentru a forma ATP, conform reacției:

$$2\,ADP \xrightarrow{Miokinaza} ATP + AMP.$$

Această cale de regenerare a ATP este însă neeconomică.

Faza aerobă include reacțiile biochimice oxidative cu sediul în sarcozomi (mitocondrii musculare) prin care se generează cantități importante de energie ce se încorporează în molecule de ATP, constituind astfel o sursă eficientă de refacere a ATP consumat în procesul contracției musculare. Astfel, glucidele, acizii grași și unii aminoacizi se catabolizează pe cale aerobă prin reacțiile exergonice care constituie ciclul Krebs, β — oxidarea și respirația celulară cuplată cu fosforilarea oxidativă (biosinteza ATP).

Scanned with OKEN Scanner

De exemplu, prin catabolizarea aerobă a glucozei (glicoliza aerobă) provenită din glicogenul muscular se generează 38 moli ATP dintr-o moleculă de glucoză, conform reacției globale:

$$C_6H_{12}O_6+6O_2+38ADP+38\ H_3PO_4 \rightarrow 6CO_2+6H_2O+38ATP.$$

Degradarea aerobă a glucozei prin ciclul Krebs este consecutivă glicolizei anaerobe care intră prima în acțiune și, deși se manifestă ca un proces mai lent în comparație cu aceasta, reprezintă însă o cale majoră de regenerare a ATP asociată, în general, cu perioada de refacere.

Oxidarea completă a acizilor grași rezultați prin hidroliza lipidelor este însoțită de formarea unei cantități importante de ATP. De exemplu, prin oxidarea acidului stearic rezultă 147 moli ATP:

$$C_{17}H_{35}COOH+26O_2+147ADP+147H_3PO_4 \rightarrow 18CO_2+18H_2O+147ATP.$$

Deși lipidele constituie o importantă sursă de energie, mobilizarea și degradarea lor se realizează în cazul unor perioade lungi ale contracției sau în eforturi prelungite, fiind solicitate după utilizarea disponibilităților de glucoză și glicogen muscular.

În stare de repaus, mușchiul striat are un consum scăzut de oxigen; în cursul activității musculare, pentru desfășurarea proceselor biochimice oxidative, acest consum poate crește de aproximativ 70 ori într-un timp foarte scurt. În condițiile unei activități musculare susținute asociată cu un aport insuficient de oxigen, se creează o „datorie de oxigen" care este ulterior compensată în faza aerobă, respectiv în perioada de refacere.

Între contracția musculară și procesul respirației celulare există o anumită corelație biochimică. Declanșarea actului contractil și menținerea unei activități musculare intense sau de durată necesită scindarea unor cantități importante de ATP și formarea corespunzătoare de ADP. Disponibilitatea ADP-ului astfel rezultat determină o intensificare a respirației celulare: cu cît ADP-ul se formează mai rapid datorită travaliului muscular, cu atît mai intensă devine respirația, care este cuplată cu fosforilarea oxidativă prin care se biosintetizează ATP. Raportul dintre contracție și respirație se manifestă în contextul unor reacții de tip feed-back negativ, în sensul că scăderea concentrației de ATP induce creșterea respirației și, implicit, creșterea sintezei de ATP; intensitatea respirației și concentrația ATP se modifică cu sensuri diferite.

11.5. MECANOCHIMIA CONTRACȚIEI MUSCULARE

Deși mecanismul prin care se realizează contracția musculară nu este complet elucidat în toate detaliile sale, a fost totuși elaborată o teorie unitară și consistentă capabilă să explice o serie de fenomene care însoțesc procesul contracției. Această teorie formulată de H u x l e y și H a n s o n este cunoscută sub denumirea de *teoria filamentelor glisante* sau *teoria mecanismului glisant*. Conform postulatelor acestei teorii, contracția respectiv scurtarea fibrelor musculare se bazează pe un proces de alunecare (glisare) a setului de filamente subțiri de actină de-a lungul filamentelor groase de miozină, în sensul axei moleculare a miozinei și în direcția centrului sarcomerului care astfel se scurtează. Forța pentru contracție este corelată cu forța de alunecare între cele două tipuri de filamente, iar structurile acestor filamente reprezintă părțile eficiente ale aparatului contractil.

Scanned with OKEN Scanner

Ca urmare a glisării filamentelor de actină între filamentele de miozină se produce scurtarea sarcomerului reflectată prin îngustarea sau dispariția zonei *H* și a benzilor I, precum și prin apropierea liniilor *Z*. Deși lungimea miofibrilei se modifică în cursul contracției într-un domeniu relativ larg, totuși nu se produc modificări decelabile în lungimea globală a filamentelor. Benzile *A* își păstrează practic lungimea constantă; actul de scurtare a miofibrilei atrage însă după sine modificări la nivelul benzilor I care se îngustează. Cînd miofibrilele se scurtează cu circa 65% din lungimea în stare de repaus, se constată dispariția benzilor I, iar linia *Z* ajunge să atingă capetele a două benzi *A* adiacente; la mușchiul în stare de contracție, filamentele subțiri ajung chiar în mijlocul benzii *A*.

Schema generală a mecanismului filamentelor glisante este redată în figura 11.6. După cum s-a menționat anterior, se postulează că între fila-

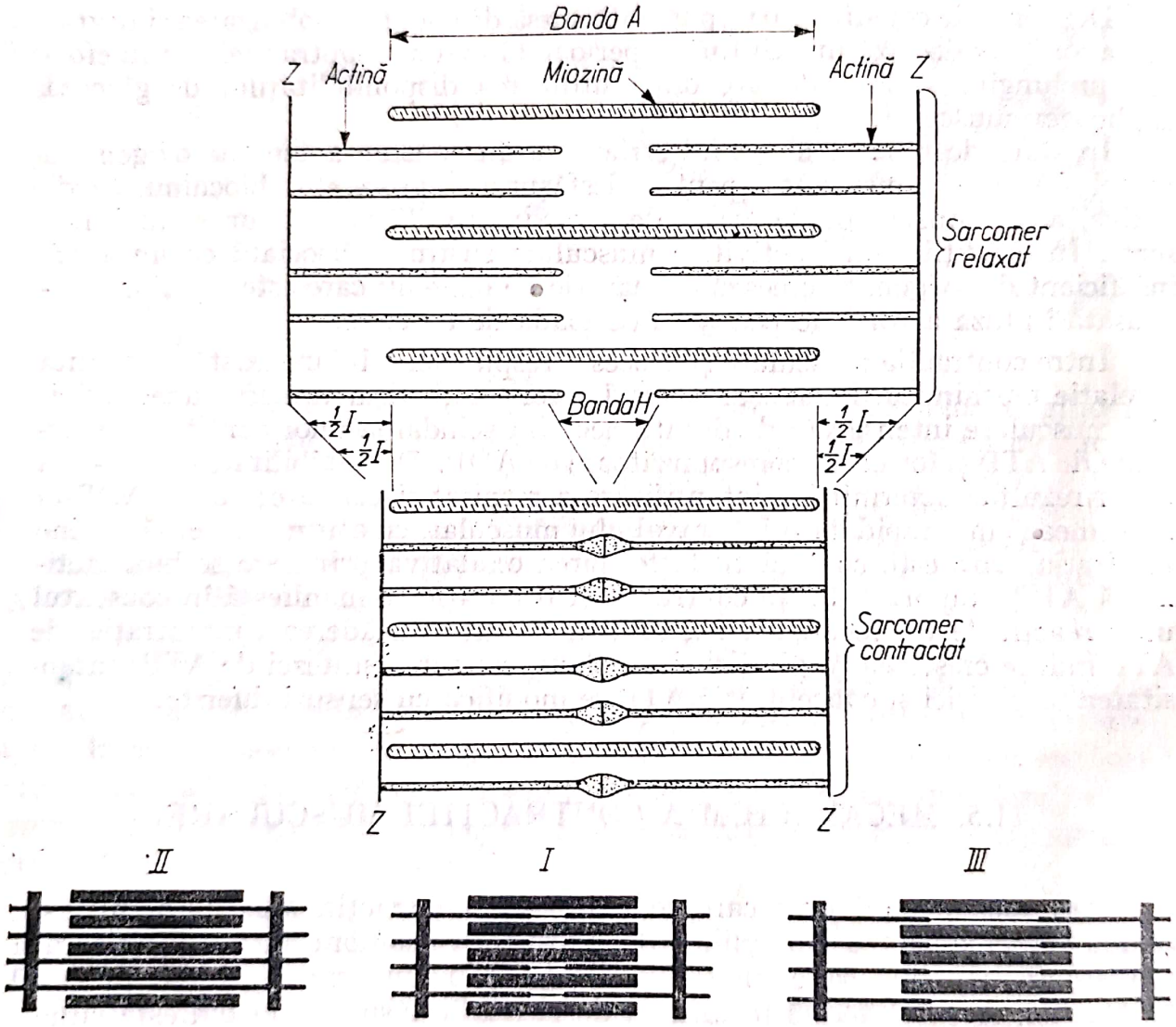


Fig. 11.6. Modelul modificărilor structurale ale miofibrilei, ilustrînd modul în care glisează filamentele groase și subțiri:
I — relaxare; *II* — contracție; *III* — extensie.

mentele de miozină și cele de actină se stabilesc anumite punți care emană din filamentele de miozină și se proiectează aproape perpendicular către filamentele de actină pe care le ating; acestea reprezintă locurile (pozițiile) de interacțiune între miozină și actină. În cursul unei contracții normale (20%

Scanned with OKEN Scanner

scurtare din lungimea de repaus), fiecare filament de actină glisează în lungul filamentelor de miozină pe distanța de 2—3000 Å. Datorită faptului că filamentele de miozină nu pot rămîne atașate la aceleași puncte pe filamentele de actină decît o mică fracțiune din contracție, ele trebuie să se detașeze și să se reatașeze de cîteva ori în decursul mișcării filamentelor. Se consideră astfel că în actul contracției se petrece un proces ciclic repetitiv la fiecare punte unde interacționează miozina cu actina. Localizarea activității ATP-azice și a capacității de combinare cu actina la nivelul componentei globulare a moleculei de miozină (HMM) care participă la stabilirea contactului cu filamentele de actină sugerează că forța de glisare se dezvoltă la aceste punți, ca o consecință a contactului fizic direct între punțile filamentelor groase și unitățile de actină din filamentele subțiri.

11.6. MECANISMUL BIOCHIMIC AL CONTRACȚIEI MUSCULARE

Interacțiunea dintre miozină și ATP constituie, sub raport biochimic, una din reacțiile cheie pentru contracția miofibrilei pe baza căreia se realizează eliberarea de energie și posibilitatea glisării filamentelor. Starea de activitate a mușchiului este asociată cu scindarea enzimatică a ATP, iar proprietatea miozinei de a efectua această scindare este mărită în prezența actinei, favorizîndu-se interacțiunea dintre miozină și actină cu formarea complexului actomiozinic.

În general, se acreditează ideea că procesul contracției decurge în etape, interacțiunea dintre miozină, actină și ATP comportînd trei stadii, fiecare stadiu putînd fi definit printr-o reacție biochimică caracteristică. Astfel:

a) În cursul perioadei de contracție activă, stimulul produs determină o transfosforilare pe molecula de miozină, gruparea fosforică rezultată prin hidroliza enzimatică a ATP atașîndu-se la molecula de miozină care dobîndește astfel o sarcină globală electronegativă:

$$\text{Miozină} + \text{ATP} \rightarrow \text{Miozină} \sim \text{P} + \text{ADP}.$$

b) În următoarea etapă caracterizată prin scurtare, se stabilește interacțiunea între miozină și actină, cu eliberare de energie utilizabilă ca tensiune sau travaliu:

$$\text{Miozină} \sim \text{P} + \text{Actină} \rightarrow \text{Actomiozină} + \text{H}_3\text{PO}_4 + \text{energie}.$$

Deoarece actina posedă o sarcină globală electropozitivă iar miozina ~ P una electronegativă, între cele două componente se realizează o atracție electrostatică însoțită de glisarea filamentelor de actină de-a lungul filamentelor de miozină.

c) În relaxare, ca urmare a aportului de ATP ajuns prin difuzie la pozițiile active, se poate produce desfacerea legăturilor stabilite între miozină și actină conform reacției:

$$\text{Actomiozină} + \text{ATP} \rightarrow \text{Miozină} \sim \text{ATP} + \text{Actină}.$$

Spre deosebire de contracție, relaxarea nu comportă deci utilizare de energie.

O interpretare generală a secvenței principalelor evenimente biochimice care intervin în cadrul interacțiunii dintre miozină, actină și activitatea ATP-azică în ciclul contracție — relaxare poate fi formulată după cum urmează:

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

În cazul mușchiului în stare de repaus, concentrația ATP este suficient de mare pentru a preveni interacțiunea filamentelor de miozină și actină cu formarea de actomiozină. În această situație, ionii Ca^{2+} necesari pentru a asigura un prag ridicat al activității ATP-azice a miozinei se află reținuți în reticulul sarcoplasmatic unde sînt legați la o proteină numită calcequestrină. Menținerea unei concentrații ridicate de ATP necesară asigurării stării de relaxare impune condiția ca activitatea ATP-azică a miozinei să fie inhibată. Această condiție se realizează prin intervenția unui *factor de relaxare* care are proprietatea de a suprima activitatea enzimatică a miozinei. În starea de repaus, factorul de relaxare este asociat cu ionii Mg^{2+} care exercită un efect activator asupra sa, spre deosebire de ionii Ca^{2+} care au o acțiune inhibitoare. Interacțiunea dintre miozină și actină este inhibată de troponină și tropomiozină cînd ionii Ca^{2+} sînt absenți.

Rezultă deci că starea de relaxare a mușchiului este condiționată de o concentrație crescută de ATP asociată cu o activitate enzimatică scăzută a miozin-ATP-azei.

Declanșarea contracției prin excitația produsă de nervul motor este însoțită în stadiul său inițial de o eliberare de Ca^{2+} din reticulul sarcoplasmatic. Calciul eliberat se leagă la troponină, producînd anumite modificări conformaționale care sînt transmise la tropomiozină și ulterior la actină; actina interacționează astfel cu miozina în condițiile eliberării de energie prin scindarea enzimatică a ATP. Deci, ionii Ca^{2+} exercită un control asupra inițierii contracției printr-un mecanism allosteric:

$$Ca^{2+} \rightarrow \text{Troponină} \rightarrow \text{Tropomiozină} \rightarrow \text{Actină} \rightarrow \text{Miozină}.$$

Inițierea contracției de către ionii Ca^{2+} eliberați via sistemul troponină — tropomiozină implică, totodată, eliberarea ionilor Mg^{2+} asociați la factorul de relaxare și înlocuirea acestora cu ionii Ca^{2+}. În aceste condiții, ionii Mg^{2+} devin disponibili și se atașează la centrii activi ai miozinei stimulînd activitatea ATP-azică a acesteia și eliberarea consecutivă de energie prin hidroliza ATP. Ca o consecință a stimulării acestei activități, se produce o diminuare a concentrației de ATP în regiunile de interacțiune ale miozinei cu actina.

Rezultă deci că starea de contracție a mușchiului este asociată cu o activitate ATP-azică intensă a miozinei, corelată cu o concentrație scăzută de ATP.

Ca urmare a scindării sale, ATP implicat în interacțiunea dintre miozină și actină este refăcut pe calea sistemului creatinfosfokinazic sau a altor surse generatoare de ATP. Sub acțiunea factorului de relaxare și a „sechestrării" ionilor Ca^{2+}, în care caz scindarea ATP nu se mai produce și concentrația sa crește, cele două componente miozina și actina disociază una de alta, fapt ce generează starea de relaxare a fibrei musculare.

Scanned with OKEN Scanner

12

PRINCIPII DE PATOLOGIE MOLECULARĂ

12.1. DEFINIREA CONCEPTELOR

Medicina modernă umană și veterinară beneficiază într-un grad tot mai mare de datele biochimiei pentru cunoașterea și interpretarea cauzelor diferitelor tulburări care determină anumite procese patologice. Actualmente, coeficientul de penetrație al biochimiei în teoria și practica medicală devine tot mai evident, patologia bazîndu-se pe necesitatea cunoașterii *substratului biochimic* al diferitelor boli, a etiologiei acestora, în consens cu procesele biochimice și celulare care concură la declanșarea sau manifestarea fenomenului patologic. Dealtfel, însuși conceptul tot mai folosit de patologie biochimică sau patologie moleculară desemnează zona de confluență între medicină și biochimie.

Încă din anul 1953, cunoscutul chimist și biochimist L. Pauling, laureat al Premiului Nobel, afirma că „toate bolile pot fi descrise ca *boli moleculare*, deoarece atît organismul viu cît și agenții care provoacă boli sînt alcătuiți din molecule". În sprijinul acestei aserțiuni, se citau ca exemple faptul că intoxicația cu CO este rezultatul combinării acestei molecule cu moleculele de hemoglobină, care pierd astfel proprietatea de a mai lega și transporta O_2, că maladia congenitală de metabolism denumită alcaptonurie este consecința incapacității organismului de a sintetiza molecula de enzimă specifică, care — în condiții normale — produce oxidarea acidului homogentizinic, nepermițînd acumularea acestuia sau că o boală ca eritroblastoza fetală are drept cauze tot modificări moleculare care implică interacțiunea dintre moleculele unui antigen Rh de pe hematii și moleculele de anticorp omolog. În acest context, se acreditează ideea posibilității ca multe boli să fie considerate și interpretate, prin substratul lor biochimic, ca boli moleculare. Aprofundarea proceselor biologice la nivel molecular permite astfel o abordare și o înțelegere cît mai completă a diferitelor boli, în strînsă corelație cu individualitatea biochimică a organismului.

Conceptul de patologie biochimică, respectiv patologie moleculară, desemnează ansamblul unor modificări calitative sau cantitative produse, în special, la nivelul unor molecule de enzime sau de proteine care antrenează perturbarea anumitor căi metabolice sau a funcției lor biologice și care acționează

Scanned with OKEN Scanner

ca factor primar în declanșarea și manifestarea unor fenomene patologice încadrate în așa-numitele boli ale metabolismului.

În corelație cu acest concept, au fost formulate și alte noțiuni ca cele de „leziune biochimică", „boli moleculare" și „defecte înnăscute de metabolism". În termeni biochimici, aceste anomalii moleculare pot avea cauze genetice sau negenetice. Conținutul acestor noțiuni se întrepătrunde; delimitarea lor nu este absolut riguroasă, ci presupune anumite nuanțări.

Leziunea biochimică se manifestă, în general, ca o consecință a unei deficiențe enzimatice și comportă anumite dereglări biochimice cu ecou patologic; acestea sînt cauzate de un deficit în activitatea unor enzime, prin care se perturbă diferite căi metabolice datorită intervenției anumitor factori care afectează activitatea enzimatică la nivel celular. Printre asemenea factori se pot menționa: diferiți inhibitori competitivi sau necompetitivi, insuficiența unor coenzime sau substraturi de reacție, defecte de biosinteză a unor proteine și enzime ca urmare a unei insuficiențe în anumiți aminoacizi, modificarea arhitecturii supramoleculare a unor organite celulare sub impactul unor factori fizici și chimici, modificări ale permeabilității biomembranelor, epuizarea unor resurse energetice, acțiunea unor antivitamine, substanțe toxice, pesticide etc.

Dereglările biochimice de acest tip pot avea un caracter reversibil — în anumite limite — în sensul că diminuarea sau anularea acțiunii unor asemenea factori restaurează activitatea metabolică normală reglată și controlată prin activitatea enzimelor.

De exemplu, intoxicația animalelor de fermă cu pesticide de tipul compușilor organofosforici care acționează ca insecticide se manifestă la nivel molecular prin blocarea activității enzimei acetilcolinesteraza (AchE). În aceste condiții, substratul de reacție — acetilcolina — nu mai poate fi hidrolizat, producîndu-se acumularea sa:

$$\underset{\text{Acetilcolină}}{(H_3C)_3\overset{+}{N}-CH_2-CH_2-O-CO-CH_3} \xrightleftharpoons{AchE} \underset{\text{Colină}}{(H_3C)_3\overset{+}{N}-CH_2-CH_2-OH} + CH_3-COOH$$

Acetilcolina (Ach) se comportă ca un mediator chimic în transmisia influxului nervos; ea este eliberată în timpul excitației și acționează asupra receptorilor colinergici de la nivelul membranelor postsinaptice. Insecticidele organofosforice au capacitatea de a se fixa la zona esterazică a moleculei de acetilcolinesterază, blocînd astfel activitatea enzimei și implicit accesul substratului (colina) la situsul catalitic (fig. 12.1). Prin inactivarea enzimei în prezența compusului organofosforic, hidroliza Ach este parțial sau total blocată, determinînd astfel modificări biochimice și anatomopatologice.

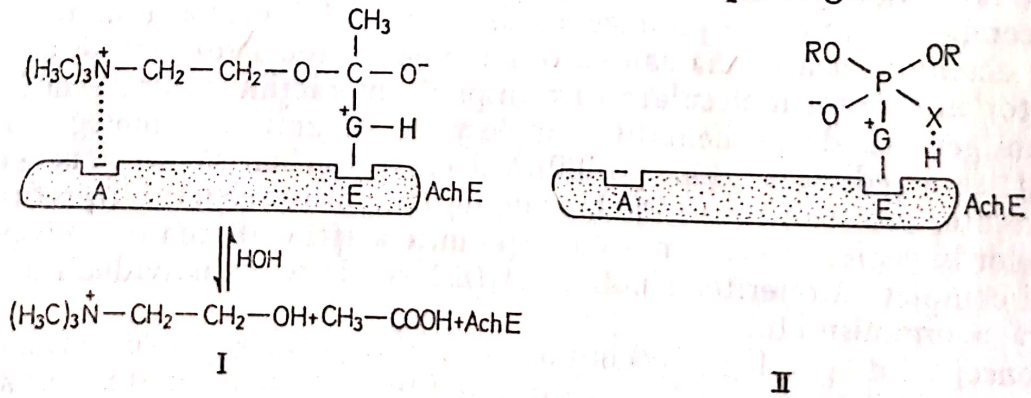


Fig. 12.1. Reacția dintre acetilcolină și colinesterază (I) și reacția de blocare a situsului esterazic de către un compus organofosforic (II):
AchE — acetilcolinesterază; *A* — situsul anionic; *E* — situsul esterazic.

Scanned with OKEN Scanner

De asemenea, methemoglobinemia se manifestă ca o leziune biochimică indusă de formarea sau de pătrunderea în organism a unor substanțe oxidante cu caracter toxic, ce afectează sistemele enzimatice reducătoare care, în mod normal, participă la reacția de transformare a methemoglobinei (Fe^{3+}) în hemoglobină (Fe^{2+}). Depășirea pragului critic al concentrației în methemoglobină antrenează diminuarea capacității hemoglobinei de a mai lega și transporta O_2, cu toate consecințele patologice ce decurg din vicierea acestei transformări biochimice.

Bolile moleculare sau defectele (*erori*) *înnăscute de metabolism* includ acele afecțiuni în care deficiența unei anumite activități enzimatice sau afectarea unei proprietăți funcționale ale unei proteine sînt condiționate genetic, ca urmare a biosintezei unor enzime sau proteine cu structuri modificate (alterate) sau a lipsei lor de biosinteză. În astfel de condiții, activitatea biochimică a acestor enzime și proteine antrenează dereglări ale unor căi metabolice sau reacții în care ele participă, avînd ca efect declanșarea unor fenomene patologice, mai mult sau mai puțin manifeste. Bolile moleculare induse de cauze genetice au, în general, un caracter ireversibil.

11.2. ABORDAREA GENETICĂ A PATOLOGIEI MOLECULARE

Patologia moleculară determinată de biosinteza unor proteine sau enzime cu structură modificată, sau de lipsa biosintezei lor, implică mecanisme genetice și se interpretează pe baza procesului de *biosinteză* a proteinelor (enzimelor) și de *reglare* a acestei biosinteze. În acest sens, *proteinopatiile* și *enzimopatiile* se bazează pe conceptul conform căruia un cistron determină secvența unui lanț polipeptidic:

$$\text{ADN} \xrightarrow[\text{ARN polimeraza ADN dependentă}]{\text{Transcripție}} m\text{ARN} \xrightarrow{\text{Translație}} \text{Lanț polipeptidic}$$

Fragmentul de ADN care conține informația pentru codificarea unui lanț polipeptidic reprezintă un *cistron* sau o genă de structură, iar traducerea informației se realizează la nivelul sistemului poliribozomic — *m*ARN (polizom).

12.2.1. DEREGLĂRI CALITATIVE

Aceste dereglări sînt produse printr-o eroare de structură a unei proteine și respectiv enzime, denumită generic proteinopatie sau enzimopatie; ele sînt cauzate astfel de biosinteza unor proteine anormale cu structură modificată, au ca substrat existența unor „leziuni" ale genelor de structură și sînt consecutive unor modificări la nivelul ADN.

Aceste dereglări se manifestă sub aspecte diferite, și anume: alterări ale structurii moleculare și implicit ale activității prin modificarea secvenței în aminoacizi; afectarea interacțiunii dintre lanțurile polipeptidice ale unei proteine și a efectelor cooperante dintre subunitățile structurii unei enzime (enzime oligomere); modificări în organizarea tridimensională, conformațională a structurii unor proteine și enzime, însoțite de schimbarea proprietăților și activității biochimice a acestora; modificări de structură a unor proteine și enzime incompatibile cu organizarea și participarea lor la edificarea unor organite celulare.

Scanned with OKEN Scanner

Proteinopatii şi enzimopatii. O serie de boli moleculare au fost evidenţiate ca rezultat al unor dereglări calitative a expresiei genice. Astfel, hemoglobinopatiile genotipice includ diferite variante de hemoglobine (Hb) cu structură anormală datorată unor defecte de biosinteză. Un exemplu tipic îl constituie existenţa hemoglobinei anormale HbS, care diferă de cea normală printr-o simplă înlocuire — în secvenţa de 146 aminoacizi — a unui aminoacid (acidul glutamic din Hb normală) cu alt aminoacid (valina în HbS). Această înlocuire este atribuită unei *mutaţii punctiforme* în structura genei normale şi se petrece în lanţul β al moleculei tetramere de globină. Modificarea survenită conferă Hb anormale instabilitate asociată cu anemie hemolitică şi apariţia unor incluziuni intraeritrocitare determinate de agregarea (precipitarea) Hb patologice, existentă în stare deoxigenată; în aceste condiţii, se produce şi o modificare a structurii interne, respectiv o deformare a eritrocitului („Sickle cell"). Modificări induse în secvenţa de aminoacizi antrenează astfel destabilizarea întregii structuri, a conformaţiei sale, însoţită de modificarea funcţiilor biologice, care au repercusiuni de ordin patologic.

În alte cazuri, o mutaţie punctiformă tradusă prin modificări în secvenţa de aminoacizi se repercutează asupra interacţiunii între cele patru lanţuri polipeptidice ale Hb ($\alpha_2\beta_2$), avînd drept consecinţă o deplasare a echilibrului către forma oxigenată a Hb, însoţită de creşterea afinităţii sale pentru O_2. În aceste condiţii, se produce o perturbare a oxigenării ţesuturilor şi o creştere a numărului de eritrocite (eritroblastoză); de asemenea, este posibilă o diminuare a afinităţii Hb pentru O_2, deoarece înlocuirea unui aminoacid cu altul poate induce o instabilitate a formei oxigenate consecutiv cu o deplasare a echilibrului către forma deoxigenată, proces care generează cianoză.

Au fost descrise, de asemenea, enzimopatii care induc diferite leziuni biochimice. Deficitul enzimatic, respectiv blocajul unor reacţii biochimice indus prin acest deficit se poate manifesta fie prin absenţa produsului final al unei secvenţe de reacţii sau al intermediarilor, fie printr-o acumulare de precursori (glicogenoze, sfingolipidoze, mucopoliglucidoze), fie prin preponderenţa excesivă a unei căi metabolice accesorii, ca urmare a blocării căii principale datorită activităţii diminuate sau a defectului de biosinteză a enzimei. Asemenea perturbări sînt redate în figura 12.2. De exemplu, în boala congenitală fenilcetonurie, absenţa enzimei fenilalanin hidroxilaza determină formarea acidului fenilpiruvic care apare în urină şi care poate afecta fluxul normal al metabolizării glucozei (v. fig. 12.2). Rezultă astfel că o enzimopatie poate determina leziuni biochimice la nivelul diferitelor căi metabolice, ca o consecinţă a unei leziuni moleculare în structura enzimei; deşi prezentă, o enzimă poate deveni inactivă ca urmare a modificării sale structurale.

În enzimopatii, leziunile moleculare pot prezenta o diversitate chiar în cadrul unei aceleiaşi structuri, ca în cazul enzimelor allosterice care au mai multe situsuri în raport cu activitatea lor. De exemplu, enzima oligomeră glicogen fosforilaza conţine un situs catalitic pentru substrat, un situs de fixare a efectorului allosteric (AMP), un situs de legare a piridoxal fosfatului, un situs de fosforilare, un situs de tetramerizare, astfel încît se pot anticipa mai multe „leziuni" posibile care ar afecta într-un anumit grad activitatea enzimatică. În alte cazuri, o enzimopatie poate fi dependentă şi de un deficit de biosinteză a coenzimei respective. Astfel, în boala denumită acidemia metilmalonică, deficitul în enzima responsabilă de conversia vitaminei B_{12} în coenzima necesară nu mai permite transformarea metilmalonil-CoA în succinil-CoA. În unele enzimopatii, leziunea moleculară se poate manifesta şi printr-o inten-

Scanned with OKEN Scanner

sificare a biosintezei enzimei, cum este cazul unei variante de glucozo-6-fosfat dehidrogenază, în comparație cu enzima considerată „normală"; astfel, existența enzimei cu structură modificată poate interveni în reglarea ratei biosintezei sale.

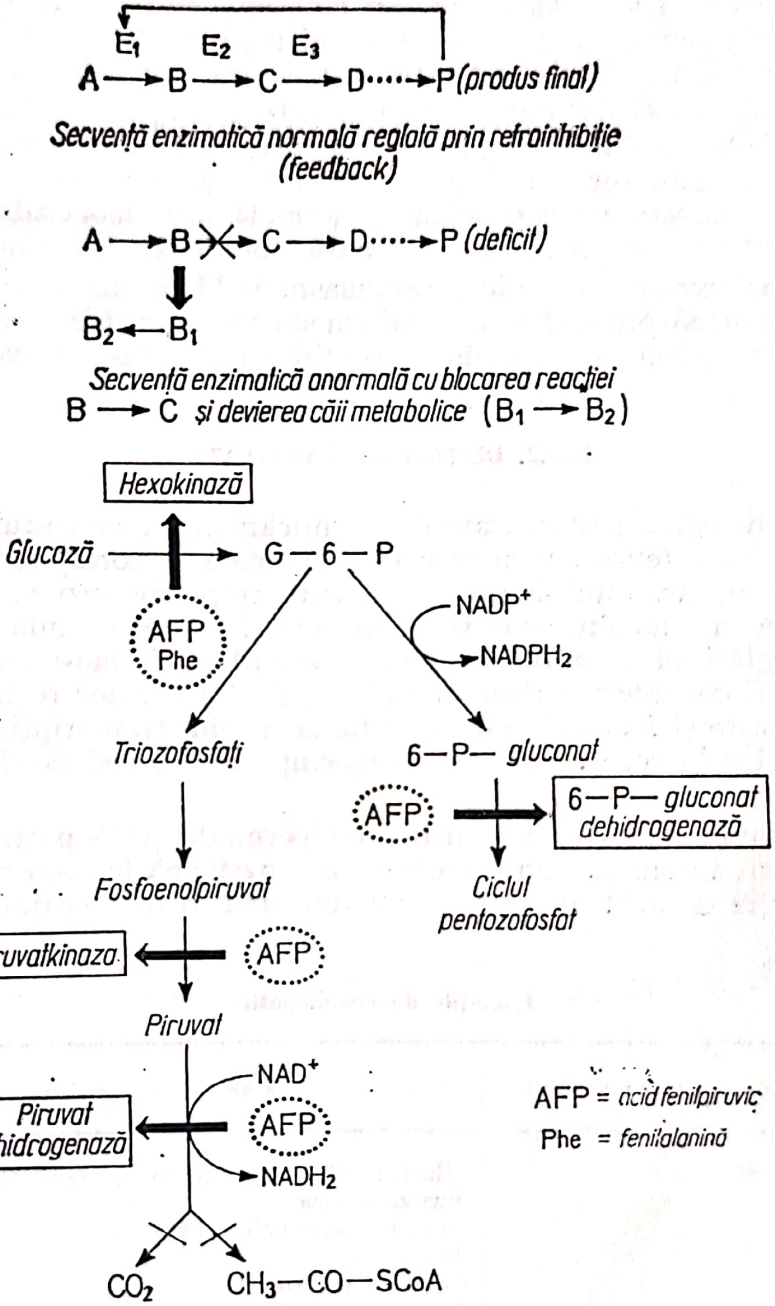


Fig. 12.2. Blocarea unor căi metabolice în cazul unor enzimopatii.

12.2.1.1. BAZELE MOLECULARE ALE DEREGLĂRILOR CALITATIVE

În termeni genetici, biosinteza unor proteine sau enzime cu structura anormală corespunde unor mutații, deleții, adiții sau fenomenului de crossing-over.

Mutațiile punctiforme se produc la nivelul unei gene de structură, în sensul că una din bazele azotate ale unui codon se schimbă cu alta, codonul

Scanned with OKEN Scanner

astfel modificat codificînd un alt aminoacid. Aceste înlocuiri corespund la o *tranziție* ($A \rightarrow G$ sau $C \rightarrow T$) sau la o *transversie* ($C \rightarrow A$).

Adițiile de aminoacizi produse de leziuni genice determină o structură anormală a unei proteine, care poate apărea sub forma unei secvențe suplimentare de cîțiva aminoacizi într-un lanț polipeptidic sau sub forma unei secvențe suplimentare la capătul unui lanț polipeptidic normal datorită unor mutații la nivelul codonului terminal, caz în care sinteza lanțului respectiv se continuă pînă la apariția unui codon *non-sens*.

Deleţiile la nivelul ADN manifestate prin pierdere a unei baze azotate, a unuia sau mai multor codoni, a unui fragment de genă sau chiar a unei gene de structură, determină o codificare anormală a aminoacizilor și, în consecință, biosinteza unei proteine cu secvență modificată de aminoacizi.

Crossing-over-ul intragenic se produce numai în cazul în care genele implicate în biosinteză prezintă mari analogii de structură (de exemplu, lanțurile polipeptidice β și δ ale hemoglobinelor prezintă numeroase secvențe identice).

12.2.2. DEREGLĂRI CANTITATIVE

Aceste dereglări sînt cauzate de modificări în randamentul de biosinteză al unor proteine (enzime) cu structură normală și corespund la diminuări sau creșteri ale nivelului anumitor proteine, respectiv enzime sau chiar prezenței unora care nu sînt sintetizate obișnuit de către o celulă normală. Asemenea dereglări au ca substrat anumite perturbări de biosinteză și se presupune că ar fi consecutive unor mutații la nivelul genelor reglatoare; totuși, pot fi implicate și anomalii localizate fie la nivelul transcripției, fie la cel al translației. Unele enzimopatii sînt consecința unor astfel de dereglări cantitative.

De exemplu, în porfirii se constată o hiperproducție de porfirine ca urmare a unui deficit în sinteza unor enzime care participă la sinteza porfirinelor; hiperproducția de acid uric este consecința unui deficit enzimatic (hipoxan-

Tabelul 12— 1

Exemple de enzimopatii

Tulburări metabolice (boli moleculare)	Deficiențe enzimatice (cauze)
Anemii hemolitice	Glucozo-6-P dehidrogenaza, Glutation reductaza, Piruvatkinaza
Alcaptonuria	Acid homogentizinic oxidaza
Albinism	Tirozinaza
Acatalazia	Catalaza (eritrocitară)
Fenilcetonurie	Fenilalanin hidroxilaza
Galactozemia	Galactozo-1P-uridil transferaza
Glicogenoze (depunere de glicogen)	Glucozo-1-fosfataza, Fosforilaza hepatică și musculară, Enzima de deramifiere (amilo-1,6-glucozidaza)
Hipofosfatazie	Fosfataza alcalină
Methemoglobinemie	NADPH și NADH methemoglobin reductaza
Sfingolipidoze (depunere de sfingolipide)	Enzima care hidrolizează sfingomieline
Hemoglobinopatii	Modificări în secvența de aminoacizi (proteinopatie)

Scanned with OKEN Scanner

tin — guanin — fosforiboziltransferaza) care produce o intensificare a sintezei purinelor. Asemenea dereglări cantitative sînt atribuite unor anomalii de reglare.

În cancer, sînt incriminate unele tulburări posibile de translație datorită unui defect al mecanismului de control al reglării genice și care se manifestă printr-un metabolism anormal al celulei canceroase. Această celulă se caracterizează printr-o amplificare a glicolizei aerobe, însoțită de creșterea cantității de ATP, condiție în care efectul Pasteur (inhibarea glicolizei prin aerobioză) este depresat.

În tabelul 12.1 se prezintă unele exemple de boli moleculare sau „erori înnăscute de metabolism" la om cauzate prin deficit sau defecte de biosinteză a unor enzime sau proteine. Este posibil ca asemenea proteinopatii sau enzimopatii să se manifeste și la diferite animale crescute în sistem intensiv, ceea ce oferă posibilități de investigație și pentru patologia moleculară veterinară.

Scanned with OKEN Scanner

13

BIOCHIMIA PIGMENȚILOR ANIMALI

13.1. CONSIDERAȚII GENERALE

Pigmenții naturali, numiți și *biocromi*, sînt compuși colorați de importanță deosebită pentru organismele vii, atît prin rolul lor de biocatalizatori, cît și prin funcțiile lor metabolice. Pigmenții sînt substanțe organice colorate, care au în structura lor duble legături, ceea ce, de fapt, conferă atît culoare, cît și un grad de instabilitate. Datorită instabilității lor, biocromii sînt implicați în procese de oxidare și de altă natură, cu rol important în organismele vii și adesea servesc la accelerarea proceselor metabolice.

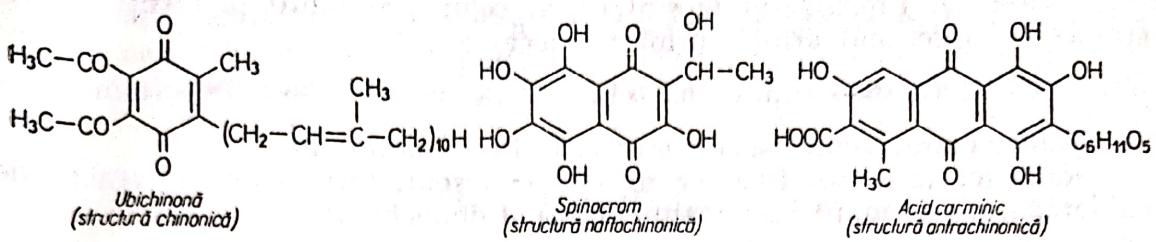
Printre compușii biocatalitici colorați, pot fi citate nouă clase de pigmenți printre care unii cu rol vital în metabolismul animal, unii fiind sintetizați *de novo* numai de plante, în timp ce alții atît de plante, cît și de animale. Printre cei sintetizați de plante sînt: chinone, flavonoide, flavine și carotinoide. Pigmenții tetrapirolici, pterine, melanine, indigoide și ommocromii se formează atît în plante, cît și în organismele animale. Melaninele, indigoidele și ommocromii predomină în organismele animale. Două grupe de pigmenți ce sînt universal răspîndiți și au funcții biochimice deosebite atît la plante, cît și la animale sînt porfirinele (v. Hemoglobine) și carotinoidele. Grupele de pigmenți, ca de exemplu, hemocianine, hemoeritrine și hemovanadine, deși se află în organismele animale nu au fost incluse în prezentul material.

13.2. CHINONE

Dintre chinone, coenzima-Q sau ubichinonele aparțin seriei benzochinonelor și sînt aproape universal răspîndite printre organismele vii și servesc ca biocatalizatori pentru oxidarea terminală din procesele respiratorii ale celulelor. Ele imprimă culoarea galben-pal produsului și numai la concentrații mai mari.

— *Structură.* Ubichinonele au fost tratate în cadrul vitaminelor *E*, de asemenea naftochinonele în cadrul vitaminelor *K*. Tot la chinone aparțin și pigmenții antrachinonici.

Scanned with OKEN Scanner



— *Rolul biochimic* al pigmenților chinonici. Pe lîngă cel biocatalitic al ubichinonelor, pigmenții cu structură naftochinonică se află în pielea și țesuturile interne ale ariciului de mare, căruia îi imprimă o culoare roz sau roșie. Nu se știe dacă au funcții biochimice. Pigmenții antrachinonici se găsesc la numeroase insecte care sînt paraziți ai plantelor.

13.3. FLAVONOIDE

Acești pigmenți apar frecvent în regnul vegetal. Animalele preiau acești pigmenți prin intermediul alimentelor. Ca exemple tipice se pot da bioflavonoidele sau vitaminele *P*, îndeosebi quercitina, cu funcții biochimice importante după cum a fost arătat la studiul vitaminelor.

13.4. FLAVINE

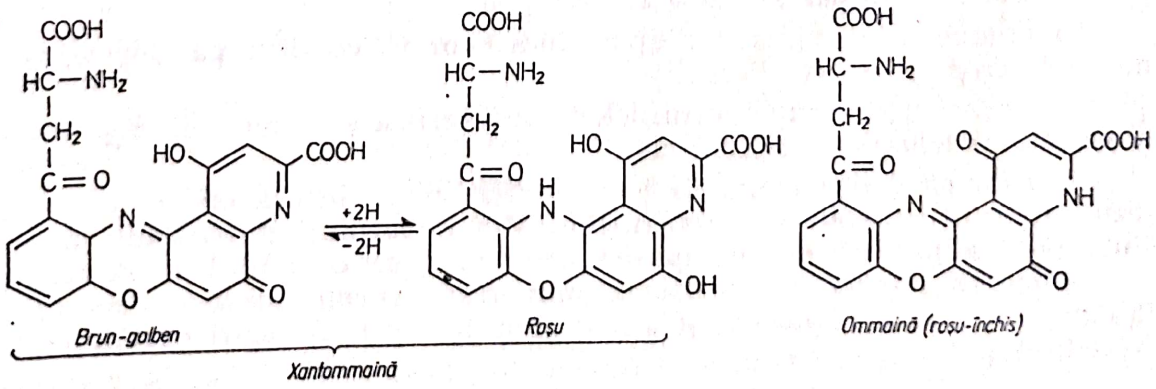
Pigmenții flavinici se află îndeosebi în plante, unde se formează. Mai important este riboflavina sau vitamina B_2. Animalele preiau acești pigmenți odată cu alimentația. Se află în toate lichidele biologice și țesuturile animale, dar totdeauna în cantități mici. În cantități relativ mari se află în lapte, iar culoarea gălbuie a zerului este datorată riboflavinei.

Prezintă proprietăți biochimice importante, îndeosebi ca biocatalizatori (coenzimele FMN și FAD).

13.5. OMMOCROMI

Ommocromii formează o grupă de pigmenți naturali ce imprimă produselor culoare galbenă, roșie sau violetă. Se găsesc îndeosebi la nevertebrate ca: artropode, insecte, moluște etc.

Structură. Sînt pigmenți fenoxazonici, derivați de la triptofan sau chiar de la metionină.



Biosinteză. Precursorul biosintetic al celor mai mulți pigmenți ommocromi este triptofanul, urmînd următoarea cale:

triptofan → kinurenină → hidroxikinurenină → → ommocromi

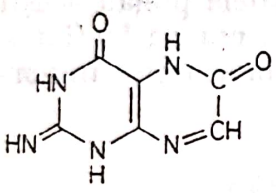
Pentru ommocromii cu sulf precursorul este metionina.

Rolul lor este încă în mică măsură cunoscut, intervenind în reacții de oxidoreducere de mare importanță: dopa → dopachinonă.

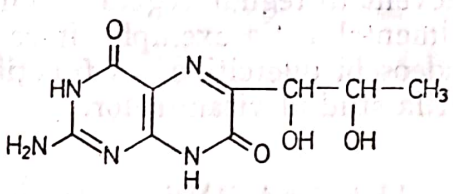
13.6. PTERINE

Pterinele sînt pigmenți naturali de culoare diferită, de la incolor la galben pînă la roșu. În cantități mici, acești pigmenți se află în țesuturile tuturor organismelor vii. În cantități mai mari se găsesc în aripile și în tegumentele insectelor lepidoptere și himenoptere, albinelor, viespilor etc.

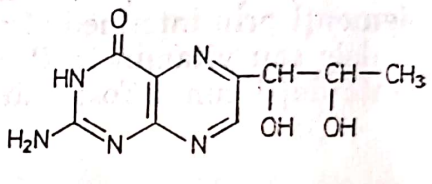
Structura chimică a pterinelor este înrudită cu cea a purinelor. Pot fi menționate cîteva pterine:



Xantopterină



Ichtiopterină



Biopterină

Biosinteza pterinelor se realizează din compuși de tip purinic după schema următoare: guanină → pterină.

Rolul biochimic al pterinelor constă, în primul rînd, în înrudirea lor cu acidul folic. Astfel, xantopterina inhibă formarea pigmenților melaninici, iar ichtiopterina prezintă proprietăți de vitamină B_1. De asemenea, pterinele activează procesele sexuale, stimulează diviziunea celulară și prezintă rol antianemic.

13.7. PIGMENȚI TETRAPIROLICI

Pigmenții tetrapirolici, după structura lor, se împart în două grupe și anume: *pigmenți porfirinici* sau *porfirine* și *pigmenți biliari* sau *bilicromi*.

— *Porfirinele* se află atît în plantele verzi, ca de exemplu în cloroplastine, cît și la animale în hemoglobine și hemoproteine, așa cum s-a arătat la cromoproteide, citocromi, peroxidaze etc.

În organismele animalelor apar, îndeosebi în condiții patologice, așa-numitele *uroporfirine* (v. Porfirii).

De asemenea, în grupa porfirinelor pot fi incluse și vitaminele B_{12}. Toate porfirinele îndeplinesc rol biochimic.

— *Bilicromii* sînt pigmenți tetrapirolici liniari, în cea mai mare parte rezultați prin catabolizarea porfirinelor. Mai importanți din regnul animal sînt: biliverdina, bilirubina, aplisiovilina (v. Catabolismul hemoglobinei).

Bilicromii reprezintă constituenți importanți ai colorării în verde și brun la numeroase insecte, precum și a anumitor țesuturi în cazuri patologice la vertebrate.

Scanned with OKEN Scanner

Calea biosintetică a bilicromilor este cea reprezentată la porfirine.

La multe nevertebrate bilicromii reprezintă produși de excreție. Îndeplinesc un rol protector împotriva luminii, precum și de adaptare cromatică.

13.8. INDIGOIDE

Acești pigmenți rezultă prin oxidarea triptofanului și sînt reprezentați mai ales compușii indigoici, redați în figura 13.1. Un precursor incolor, leuco-

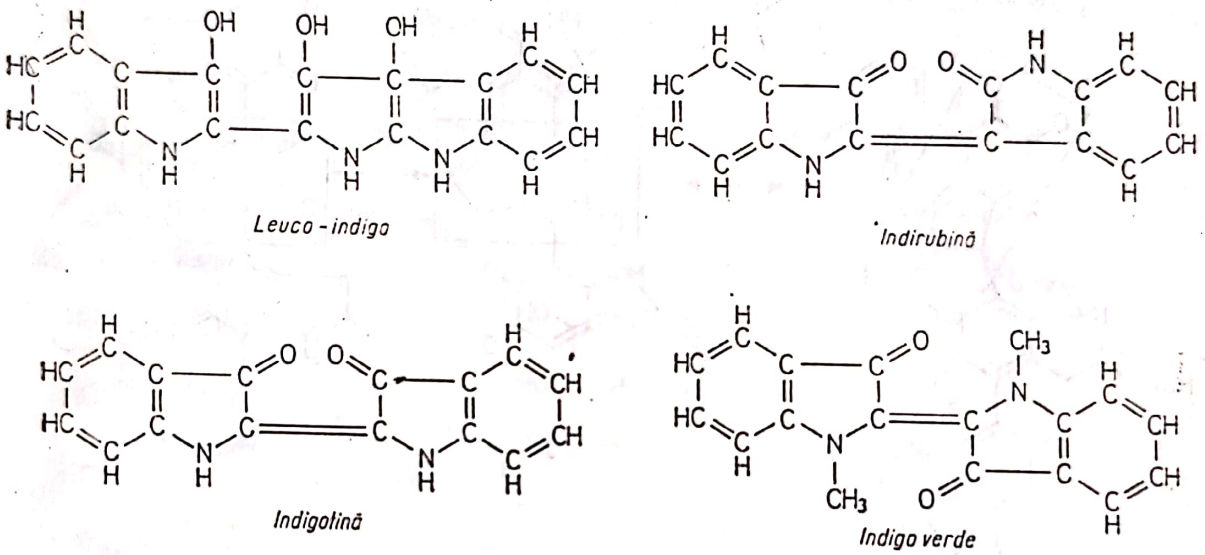


Fig. 13.1. Structura principalelor indigoide.

indigo, rezultă prin oxidare, chiar la aer, și dă naștere la indigo albastru, numit indigotin. Alte indigoide, mai puțin comune, sînt indirubina (roșu) și indigo verde. Toate indigoidele apar mai ales la animale, în mod frecvent în cazul putrefacțiilor intestinale sau în condiții patologice.

13.9. MELANINE

Pigmenții melaninici sînt de tip indolic, ca și indigoidele, de cea mai largă răspîndire. Ei se găsesc la toate nivelurile filogenetice: la animale, microorganisme, nevertebrate și vertebrate, cît și la plante. Melaninele predomină în toate țesuturile animale și de prezența lor este legată culoarea închisă (neagră sau roșcată) a părului și pielii animalelor. Sînt localizate în celulele melanocite.

Structură. Termenul de melanină este de natură descriptivă, fiind utilizat pentru desemnarea unui număr mai mare de compuși organici cu proprietăți fizice și chimice variate, avînd culoarea de la galben, roșu, brun pînă la negru. Există diferență în structura melaninelor prezente la diferite specii animale și chiar la aceeași specie, între melaninele unui țesut și ale altui țesut. În figura 13.2 sînt prezentate trei modele structurale ale melaninelor. Sînt polimeri chinoidici. Se cunosc două tipuri de melanine: *fenomelanine* și *eumelanine*. Fenomelaninele se diferențiază de eumelanine după conținutul lor în sulf,

rezultînd prin unirea produşilor de oxidare ai tirozinei cu cisteină, care dau naştere la compuşi macromoleculari triocromi gălbui, cu mase moleculare mai mici şi alţii, de culoare brun-roşcată, cu mase moleculare mai mari.

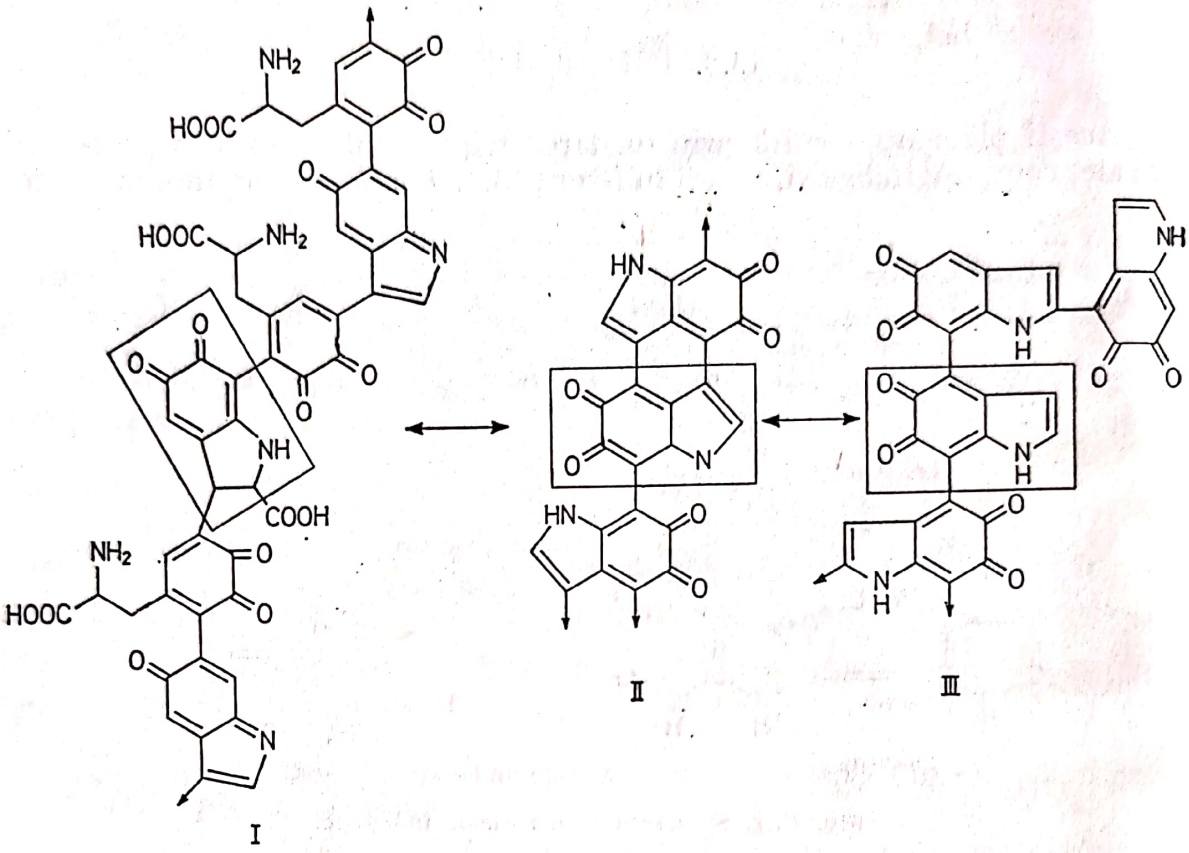


Fig. 13.2. Modele structurale ale melaninelor.

Biosinteză. Precursorul biosintetic este tirozina care este oxidată la dihidroxifenilalanină (DOPA). Acest DOPA, printr-un şir de reacţii de oxidări, ciclizări şi polimerizări, duce la melanine de tip eumelanine, iar la condensarea formelor oxidate ale DOPA cu cisteină se formează fenomelanine. Procesele biosintetice sînt prezentate în figura 13.3.

Procesul biosintetic are două aspecte şi anume: unul enzimatic şi altul neenzimatic.

— *Procesul enzimatic* are loc în prezenţa tirozinazei (*E*), enzimă ce catalizează atît oxidarea tirozinei la DOPA, cît şi a DOPA la DOPA-chinonă. Tirozinaza are o funcţie dublă, atît de hidroxilare cu formare de difenol (DOPA), cît şi de dehidrogenare a DOPA la DOPA-crom.

— *Partea neenzimatică a procesului biosintetic* decurge la nivelul a trei derivaţi rezultaţi din DOPA-chinonă, şi anume: DOPA-crom, dihidroxiindol şi la etapele de polimerizare. Reacţia de polimerizare are loc instantaneu.

Procesul biosintetic al melaninelor este determinat de o serie de factori atît de natură exogenă, cît şi de natură endogenă sau hormonală. Un rol însemnat îi revine îndeosebi MSH, dar şi ACTH.

Rolul biologic al melaninelor constă în faptul că absorb radiaţiile din domediul vizibil şi ultraviolet. Lipsa melaninelor, parţială sau totală, produce albinism sau acromie. În boala Addison se produce melanemie şi melanurie.

Scanned with OKEN Scanner

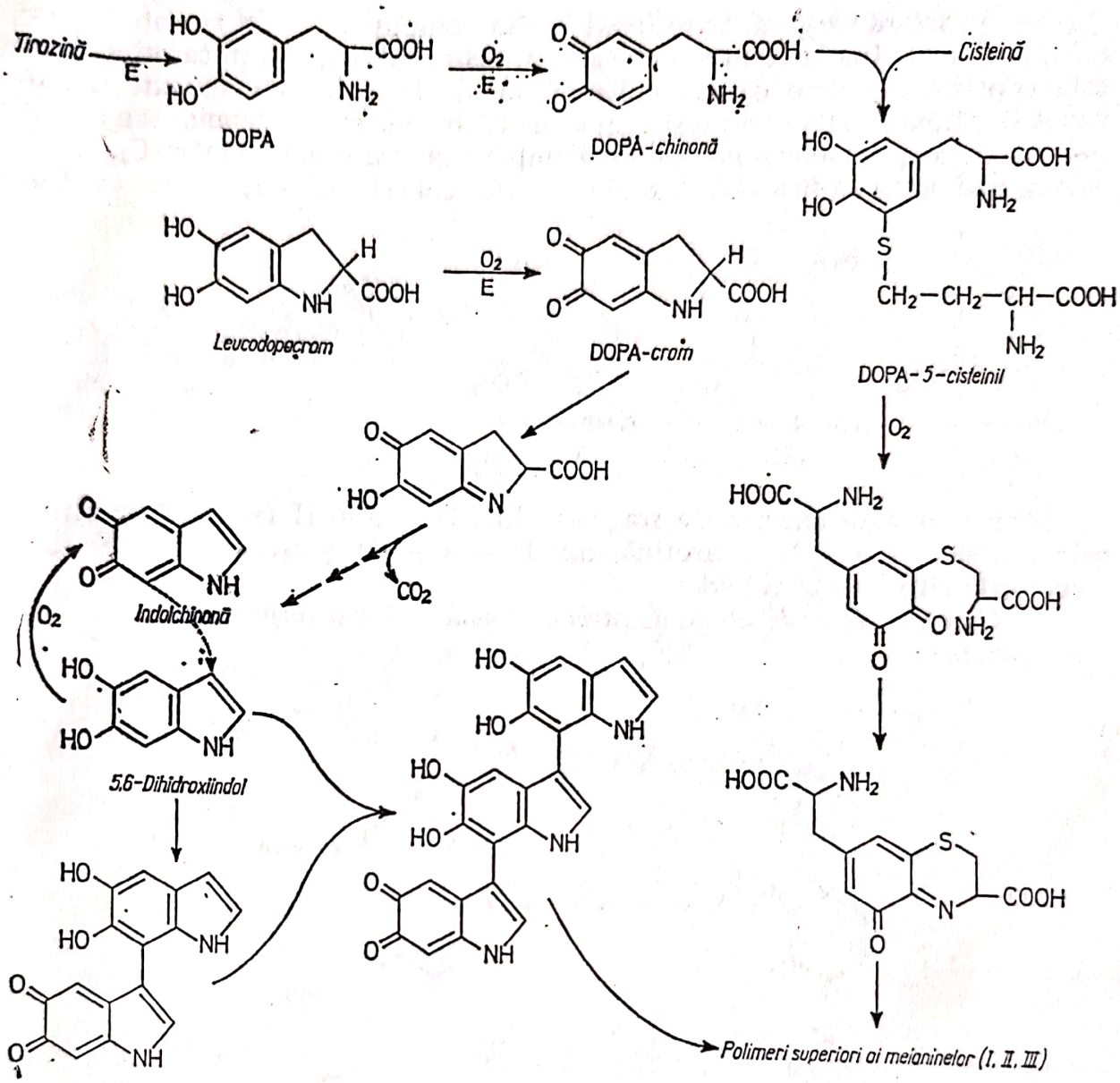


Fig. 13.3. Calea biosintetică a melaninelor.

13.10. CAROTINOIDE* SAU PIGMENȚI CAROTINOIDICI

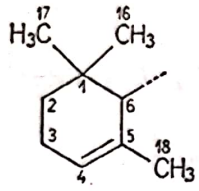
Carotinoidele sînt pigmenți universal răspîndiți atît în regnul animal cît și în cel vegetal. Acești pigmenți imprimă culoare galbenă, roșie și violetă produselor. Se formează însă numai în plante, atît la cele cu clorofilă cît și la cele fără clorofilă, iar organismele animale le preiau prin hrană. La animale se află în cantități relativ mai mari în : sînge (100—300 micrograme la 100 ml) ovare, gălbenușul de ou și în lapte. Toate carotinoidele sînt liposolubile.

Clasificare generală. Carotinoidele, după structura lor, se pot clasifica în mai multe grupe, și anume: *hidrocarburi* (*carotine* α—, β — etc.), *alcooli* (xantofile), *cetone, esteri, carotinoide carboxilice, carotinoide cu ciclul aromatic, carotinoide acetilenice* și *carotinoide alenice.*

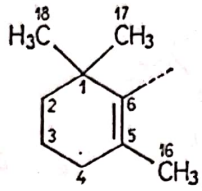
* Uneori, pentru desemnarea carotinoidelor se utilizează termenul „caroten", care reprezintă un amestec format din circa 85% β-carotină, 15% α-carotină și 0,1% γ-carotină.

Scanned with OKEN Scanner

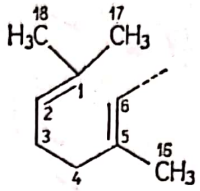
— *Structură chimică.* Carotinoidele sînt compuși polienici cu catenă constituită din 20 pînă la 50 atomi de carbon. Scheletul majorității carotinoidelor este constituit dintr-o catenă polienică cu duble legături conjugate (*a*), la capetele căreia se află cîte un sistem ciclic (β-ononic sau α-ononic) sau aciclic (γ-ononic sau pseudoiononic). Cele mai importante carotinoide sînt cu C_{40}, dar și cele cu mai puțin de 40 atomi de carbon în moleculă și mai puțin cele cu C_{50}.



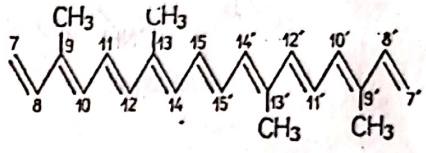
Ciclul α-ononic
(I)



Ciclul β-ononic
(II)



Ciclul δ-ononic
(III)

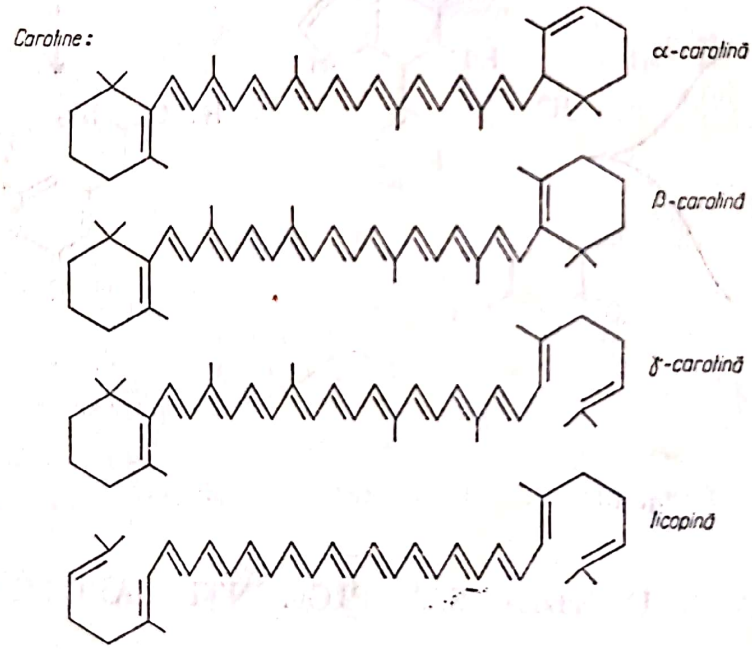


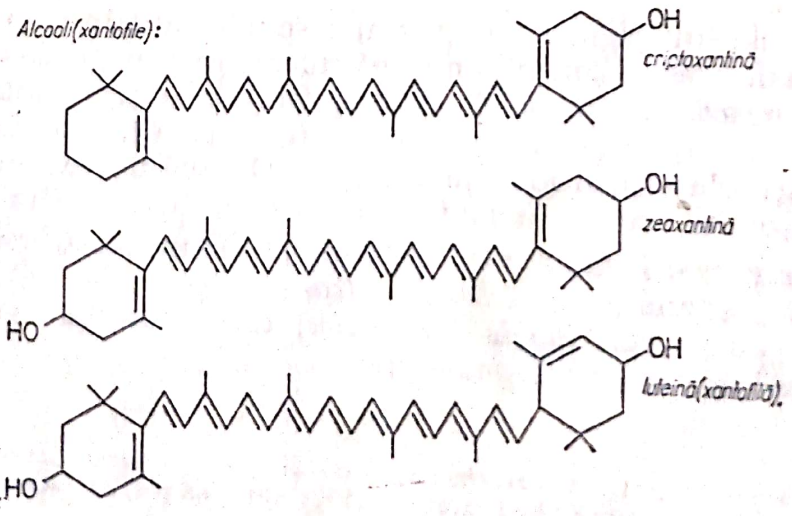
a

Prin unirea, de exemplu, a fragmentelor: II + *a* + II rezultă β-carotină, prin unirea I + *a* + II α-carotină, din II + *a* + III γ-carotină etc. Se dau structurile cîtorva carotinoide.

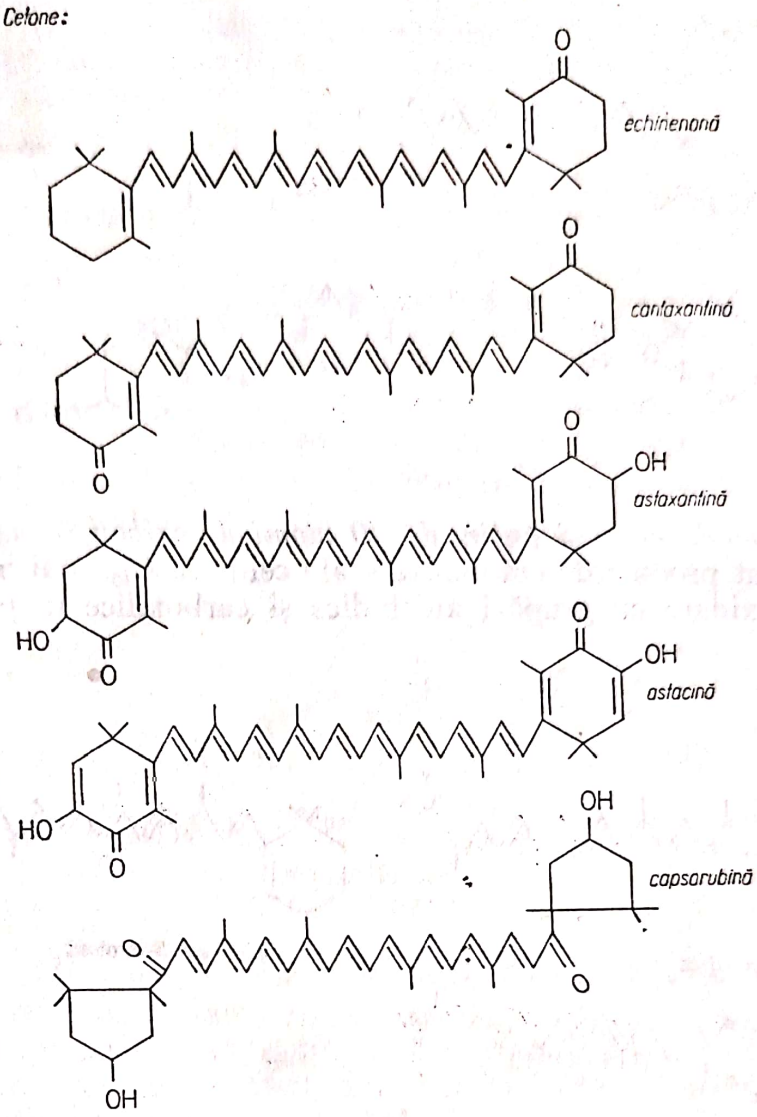
— *Carotinoide cu 40 atomi de carbon în moleculă mai importante.*

Carotine:



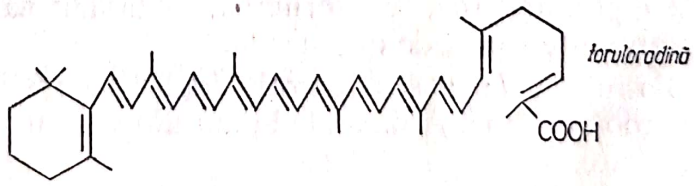


Cetone:

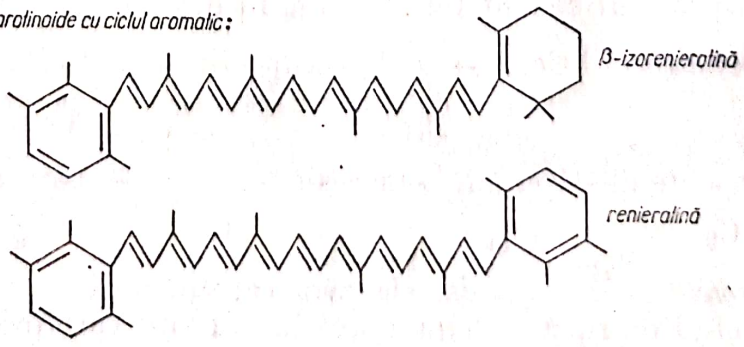


Esteri. Sînt derivați ai carotinoidelor hidroxilate cu acizi. Astfel, dipalmitatul luteinei, numit *helenien*, este utilizat ca medicament.

Carotinoide carboxilice:

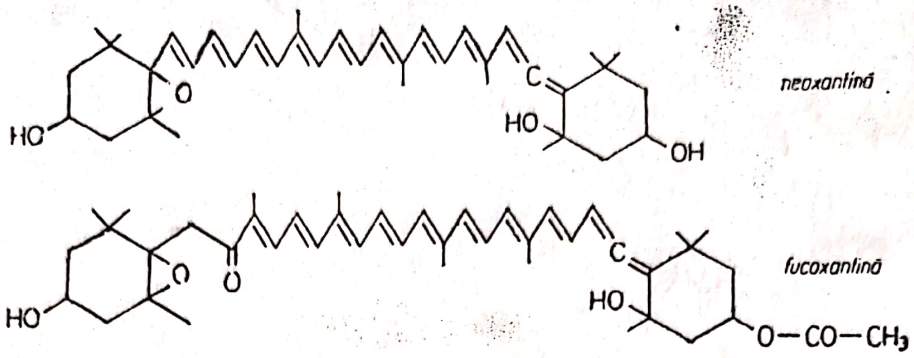


Carotinoide cu ciclul aromatic:

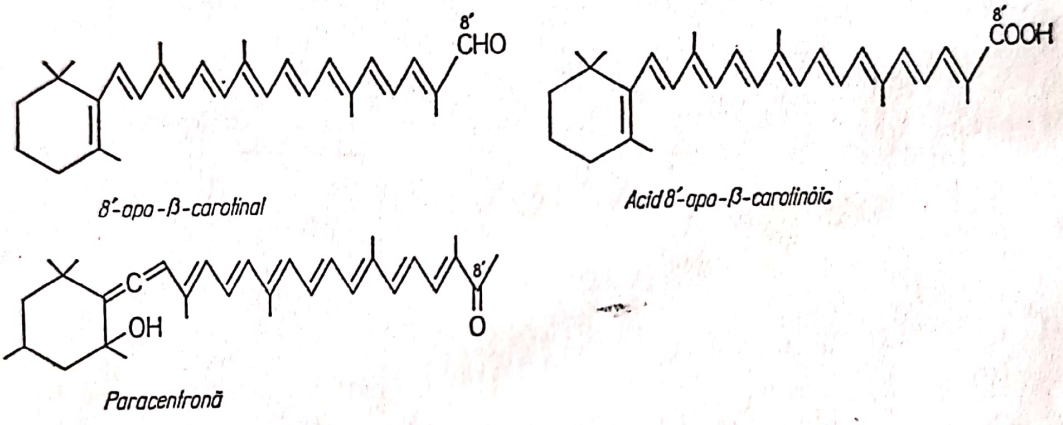


Scanned with OKEN Scanner

Carotinoide olenice:



— *Carotinoide cu mai puțin de 40 atomi de carbon în moleculă.* Aceste carotinoide sînt produși de catabolizare ale celor cu C_{40}. Mai importante sînt derivații de oxidare cu grupări aldehidice și carboxilice în pozițiile 8′, 10′ sau 12′.



În ceea ce privește răspîndirea acestor carotinoide în lumea vie, printre cele ce se află din abundență sînt: fucoxantina (alge), luteina (boabe de porumb, în tegumentul tuturor păsărilor) și neoxantina (frunze). Printre cele care se găsesc universal, dar în cantități mici, sînt: β-carotina și zeaxantina. Unele carotinoide, de exemplu, licopina, capsorubina, astaxantina și astacina predomină numai în anumite tipuri de organisme.

Biosinteză. Biosinteza *de novo* a carotinoidelor se realizează numai de plante și unele microorganisme. Animalele le iau din regnul vegetal și le utilizează prin catabolizare.

În plante, procesul biosintetic decurge în următoarele etape mari:

acid acetic (acetil-CoA) → acid acetilacetic → acid mevalonic →
C_2 C_4 C_6

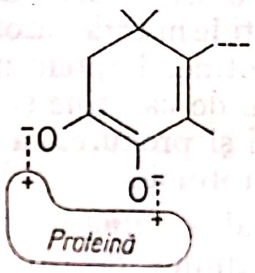
→ izopentenil → geranil → farnesil → geranil → carotinoide
C_5 C_{10} C_{15} C_{20} C_{40}

Carotinoproteide. În organismele vii carotinoidele se află legate de proteine, alcătuind o grupă de cromoproteide. Toate carotinoproteidele sînt

solubile în apă. Ele posedă proprietăți spectrale diferite de cele ale carotinoidelor libere. În organismele animale carotinoidele se află sub formă de *esteri*, *carotinoproteide* și în *stare liberă*.

Carotinoproteidele sînt de o varietate de culori foarte mare. Legătura dintre carotinoidă și proteină este de natură ionică și în general labilă. În general, compușii carotinoproteici formează cetocarotinoidele (cantaxantină, astaxantină etc.), cu proteine cu grupare NH_2 liberă. S-au izolat carotinoproteide la nevertebrate. În serul de găină și de vacă a fost identificat complexul β-carotină-albumină. În ouăle de homari se află ovoverdina (de culoare verde), iar în ouăle unor gasteropode, ovorubina (de culoare roșie). Aceste carotinoproteide posedă carotinoida astaxantină. S-au identificat și complecși cu luteină. Uneori complexul este mai bogat, antrenînd și lipide.

Carotinoproteidele joacă un rol însemnat în vehicularea carotinoidelor în organism, cît și în biochimia lor.



Fragment din structura unei carotinoproteide

Catabolizare. În general, asupra transformărilor carotinoidelor ingerate în organismele vii și vehicularea lor sub formă de carotinoproteide, s-au emis mai multe ipoteze, dintre care rămîn trei și anume: prima, depozitarea fără deosebire a carotinoidelor, a doua, depozitarea preferențială a uneia sau a mai multor carotinoide, iar a treia, catabolizarea lor. Regnul animal asimilează, metabolizează și depozitează carotinoide. În funcție de capacitatea organismului de a utiliza carotinoidele, se deosebesc diferite grupe de animale și anume:

— *Animale* care asimilează și depozitează anumite carotinoide, în mare majoritate carotine*, numite *carotine selectoare*. Așa sînt de exemplu, cabalinele și bovinele.

Cea mai mare cantitate de masă verde este caracterizată printr-un mare conținut de xantofile, care uneori depășesc chiar cu 90 % cantitatea de carotine. Există totuși animale care consumă astfel de furaje și care selectează numai carotinele. Cabalinele sînt un exemplu remarcabil în acest sens. Întreaga cantitate de carotine ingerată este regăsită în sînge, ficat, țesut adipos sau alte țesuturi provenind din furajul administrat, dar nici urmă de xantofile. Excesul de carotine, aproximativ 60—80 % din cele ingerate, poate fi regăsit în fecale și aproape 60 % din xantofile se regăsesc tot aici, rămînînd 40 % care sînt transformate la nivelul intestinului.

Diferite specii de bovine, de asemenea, selectează puternic carotinele sau asimilează fracțiuni minore de xantofile din furaj. β-Carotina, principala carotină, se află în: lapte, unt, sîngele bovinelor, grăsimea corpului, corpul galben, corticosuprarenale.

---

* Carotinele sînt hidrocarburi carotinoidice

Scanned with OKEN Scanner

— *Animale* care nu depozitează carotine, ci numai hidroxicarotinoide și numai unele tipuri de cetocarotinoide, eliminînd carotinele în fecale sau într-o formă oxidată. Unele animale convertesc o parte din carotine în vitamină A. Aici sînt incluse păsările. Aceste carotinoide depozitate se numesc *xantofile selectoare*. Printre animalele care selectează xantofilele din amestecul de carotinoide sînt peștii și păsările. Păsările de curte depozitează carotinoidele, îndeosebi luteina și zeaxantina în gălbenușul de ou, iar o parte, chiar în țesutul adipos. Carnea de pasăre pigmentată în galben-portocaliu, datorită hidroxicarotinoidelor, este apreciată de consumatori.

Printre nevertebrate, *Metridium senile fimbriatum* utilizează carotinoide în perioada ovogenezei, dar numai cantaxantină și astaxantină.

— *Animale* care asimilează și depozitează *carotinoide neselectoare, carotine* și *derivații lor oxigenați*, îndeosebi în grăsime și în țesutul adipos. Aici sînt incluse broasca, caracatița și omul.

Printre organismele vii care asimilează carotinoidele în mod nediscriminatoriu este omul.Din concentrațiile mici de carotinoide totale din ficat(2 mg/kg) aproximativ jumătate sînt carotine. Laptele uman și grăsimea corpului, de asemenea conțin fracțiuni egale de carotine și hidroxicarotinoide. Cantitățile sînt și mai variabile în țesuturi și produse, ca de exemplu în mușchii inimii, unde nu s-a identificat nici o carotinoidă.

— *Animale*, care, în general, *elimină carotinoidele ingerate* și nu depozitează nici una sau numai urme infime de carotinoide. Unele animale elimină carotinoide la nivelul mucoasei intestinale, astfel că acestea lipsesc complet din fecale. Totuși aceste animale formează vitamina A prin scindarea oxidativă a β-carotinei. În această grupă de animale intră carnivorele, suinele, ovinele, caprinele, cobaii și cîteva nevertebrate.

În contrast cu bovinele, se cunosc specii înrudite care nu asimilează deloc, sau numai în cantități neglijabile carotinoide din furaj. Astfel, ovinele și caprinele nu acumulează decît urme de carotine în sînge, chiar dacă au fost întreținute cu iarbă proaspătă. Diferite specii rumegătoare sălbatice se comportă în mod asemănător.

La suine, carotinoidele preluate din furaj trec prin organism și nu se asimilează deloc la nivelul mucoasei intestinale sau sînt degradate în acest loc. Au putut fi detectate numai urme de β-carotină la extragerea multor kg de ficat de suine.

— *Animale* care transformă carotinoidele asimilate în variate tipuri ale acestor pigmenți, catabolizîndu-i, respectiv oxidîndu-i în parte la derivați hidroxilici, cetonici sau diferiți compuși oxidați. Astfel, β-carotina poate fi convertită în mono- și dihidroxiderivat sau la mono- și dicetonă, după schemele:

β-carotină ⟶ derivați hidroxilici ⟶ cantaxantină;

β-carotină → → cantaxantină ⟶ astaxantină;

luteină ⟶ astaxantină.

Formele cetonice (cantaxantina și astaxantina) reprezintă principalele carotinoide de depozit în organismele marine, insecte, moluște, corali, pești și unele păsări.

Rolul pigmenților carotinoidici în organismele animale. Rolul biochimic principal al carotinoidelor constă în a fi provitamine A, care prin oxi-

Scanned with OKEN Scanner

darea la dubla legătură $C_{15}=C_{15'}$ dă naștere la retinal și apoi, prin hidrogenarea la retinol sau vitamina A. Vitamina A este implicată în procesul biochimic al vederii, în creștere, în menținerea integrității țesuturilor de la suprafață și a membranelor mucoaselor, ca fotoreceptori și fotoprotectori. β-Carotina joacă un rol important în maladiile numite porfirii.

— *Rolul de provitamine A ale carotinoidelor.* Rolul de provitamine A este îndeplinit numai de unele carotinoide cu C_{40} ca de exemplu:

β-Carotină →2 retinal→2 retinol (2 moli)

α-Carotină →retinal →retinol (1 mol)

γ-Carotină →retinal →retinol (1 mol)

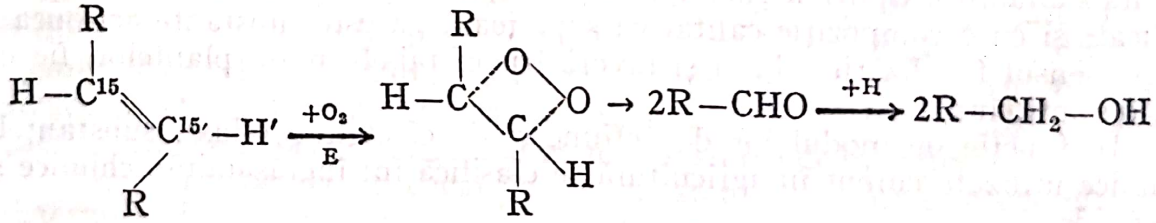
criptoxantină→retinal →retinol (1 mol)

Toate carotinoidele cu mai puțin de C_{40}, aldehide sau acizi (cu ciclu β-ononic intact) → retinal → retinol (1 mol)

Carotinoidele cu ciclul β-ononic oxigenat sau cu catena polienică alterată nu îndeplinesc rol de provitamină *A*. Din acest motiv se și disting carotinoide biologic active și carotinoide inactive biologic.

Principala provitamină *A* este β-carotina care poate da naștere la doi moli de vitamină (prin reacția de oxidare la mijlocul catenei) și de un mol prin oxidare avînd ca etape intermediare apocarotinoidele.

Scindarea provitaminelor *A* se realizează sub acțiunea oxigenului molecular și în prezența enzimei β-carotină-15, 15′-dioxigenază (E)



Retinal Retinol

Scindarea are loc în ficat. În cazul cînd organismul are suficientă vitamină *A* întreaga cantitate de provitamină *A* este regăsită intactă în ficat. În acest fel organismul animal pe de o parte își asigură necesarul de vitamină *A*, iar pe de altă parte, se protejează de cantități prea mari de vitamină *A*, deoarece o hipervitaminoză *A* duce la carotinodermie, boală cunoscută sub denumirea de *xantoză*.

În ultimii ani au apărut aspecte noi legate de analogi structurali ai vitaminei *A* care au rol în prevenirea cancerului epitelial, iar carotinoidele îndeplinesc și un rol anticancerigen.

Scanned with OKEN Scanner

14

IMPLICAȚII BIOCHIMICE ALE POLUĂRII ÎN ZOOTEHNIE

14.1. CHIMIZAREA AGRICULTURII ȘI ZOOTEHNIA

Obiectivele majore ale agriculturii de tip intensiv, concepută pe baze științifice sînt orientate spre asigurarea unui înalt și constant randament productiv. Realizarea acestor obiective este indisolubil legată de aplicarea pe scară largă a unor metode agrotehnice și tehnologii perfecționate, în ansamblul cărora chimizarea agriculturii deține un rol important.

Denumirea generică de chimizare a agriculturii implică utilizarea eficientă a anumitor tipuri de substanțe chimice, în scopul obținerii unor producții ridicate și cu o compoziție calitativă superioară; aceste substanțe acționează fie în sensul fertilizării solului și favorizării metabolismului plantelor, fie cu rol de antidăunători.

În funcție de modul lor de acțiune și de efectele produse, substanțele chimice utilizate curent în agricultură se clasifică în: îngrășăminte chimice și pesticide.

Îngrășămintele chimice sînt substanțe anorganice sub formă de săruri (îngrășăminte azotoase, fosfatice) sau organice (ca ureea) care se administrează pentru fertilizarea solului; ele conțin azot și/sau fosfor ca elemente chimice indispensabile creșterii și dezvoltării plantelor, asigurînd astfel sporuri de recoltă.

Pesticidele (produse fitofarmaceutice sau fitosanitare) reprezintă substanțe cu rol de combatere sau distrugere în masă a diferiților dăunători ai plantelor și recoltelor, de protecție a produselor stocate, precum și de combatere a agenților de răspîndire a unor boli la animale (cu excepția medicamentelor). În categoria pesticidelor se includ: *erbicidele* (combaterea buruienilor), *insecticidele* (combaterea insectelor dăunătoare pentru plante și recolte), *fungicidele* (combaterea ciupercilor fitopatogene), *rodenticide* (combaterea unor rozătoare). Spre deosebire de îngrășămintele chimice, pesticidele nu participă la metabolismul plantelor, dar acționează complementar, menținînd avantajele date de îngrășămintele chimice, în sensul reducerii sau anulării pagubelor produse de diferiți dăunători. Persistența mare în sol a unor pesticide și gradul lor mare de remanență în plante pot determina însă efecte nedorite, constituind astfel surse de intoxicare pentru animale.

Scanned with OKEN Scanner

În contextul relației de interdependență dintre sol, plantă și animal, rezultă că între chimizarea agriculturii, zootehnie și starea de sănătate a animalelor de fermă există o legătură directă. În condițiile unei administrări care depășește anumite limite, atît pesticidele cît și unele îngrășăminte chimice pot pătrunde în organismul animal, fie prin consumarea unor furaje care au acumulat astfel de substanțe, fie pe alte căi, exercitînd un efect poluant, cu producere de toxicoze și stări de morbiditate care influențează economia animală, În consecință, raportul dintre chimizarea agriculturii și zootehnie se impune a fi cunoscut și înțeles nu numai în sens pozitiv, ci și sub aspectul unor efecte poluante, care pot afecta starea de sănătate a animalelor de fermă și implicit calitatea produselor animaliere. Acest aspect se integrează în strategia protecției mediului ambiant, protecție reglementată prin lege în țara noastră (Legea 9/1973).

14.2. SURSE DE POLUARE ȘI EFECTE GENERALE ASUPRA ORGANISMULUI

Folosirea, uneori excesivă și neriguros controlată, a pesticidelor exercită o acțiune toxică asupra organismului animal, determinînd perturbarea anumitor reacții sau procese biochimice care pot evolua în stări de intoxicație cu forme acute sau cronice.

Ca surse frecvente de intoxicare, sînt considerate: poluarea chimică a furajelor, administrarea în exces de îngrășăminte chimice pe terenuri furajere, erbicidarea masivă, folosirea unor cantități excesive de insecticide și fungicide, aditivi furajeri, micotoxine, contaminarea aerului și a apei de băut cu substanțe produse sau eliminate de unele fabrici etc.

Diferitele substanțe chimice pătrund în organism pe cale digestivă, respiratorie și tegumentară. Odată pătrunse, ele sînt vehiculate pe cale sanguină și difuzează în diferite țesuturi, în funcție de gradul lor de permeabilitate, prin membranele celulare. Manifestarea toxicității depinde de diferiți factori ca: structura chimică, concentrația, remanența, tipul de metabolizare, precum și de specia, rasa, sexul, regimul alimentar și starea de întreținere a animalelor.

Simptomatologia intoxicațiilor cu substanțe chimice este complexă, ele determinînd leziuni morfologice și tulburări funcționale. Efectele generale produse asupra organismului animal care a ingerat furaje poluate chimic sau care a venit în contact, pe diferite căi, cu substanțe ce pot acționa toxic în anumite doze, se pot grupa în: efecte *methemoglobinizante* cu anularea proprietății hemoglobinei de a mai transporta O_2 și producerea de anoxie; efecte *citoplasmatice și parenchimatoase* la nivelul celulelor, capilarelor și al sistemului nervos; *efecte corosive* cu acțiune iritantă asupra suprafețelor de contact și a organelor de excreție.

14.3. ASPECTE BIOCHIMICE

Ca mecanism general de acțiune și în funcție de structura lor chimică, substanțele cu efect toxic produc — sub raport biochimic — anumite „leziuni metabolice" la nivelul diferitelor formațiuni celulare. Astfel, la *nivelul citoplasmei*, pot apărea dereglări ale căii glicolitice și ale căii pentozofosfat, cu diminuarea activității glucozo-6-fosfat dehidrogenazei și afectarea raportului $NADPH/NADP^+$. La *nivelul mitocondriilor*, se pot induce perturbări ale ciclului Krebs asociate cu diminuarea formării de acetil-coenzima *A* și a citratului.

Scanned with OKEN Scanner

În aceste condiții, se perturbă transformarea acidului lactic în acid piruvic, cu apariție de acidoză și anoxie. De asemenea, pot fi afectate unele enzime ale respirației celulare (citocromi, citocromoxidaza) și respectiv blocarea fosforilării oxidative prin decuplarea sintezei ATP de lanțul transportorilor de electroni. Diminuarea producerii de ATP, mai ales în mitocondriile hepatocitelor determină dereglări în biosinteza proteinelor și enzimelor, concomitent cu modificări în structura și permeabilitatea membranelor. La *nivelul lizozomilor*, acțiunea toxicului se manifestă prin modificări de permeabilitate, asociate cu eliberarea în spațiul citoplasmatic de enzime lizozomale care pot produce hidroliza diferiților constituenți biochimici celulari, declanșînd astfel fenomene de citoliză. Modificări biochimice s-au evidențiat și la *nivelul nucleului*, unii compuși halogenați afectînd sinteza ADN și implicit a proteinelor. O serie de pesticide produc hipertrofia reticulului endoplasmatic cu inhibarea biosintezei proteinelor la nivelul ribozomilor, precum și modificări în permeabilitatea membranelor celulare și intracelulare, dereglîndu-se transportul diferiților compuși și amplificîndu-se astfel procesul de intoxicare a celulei.

Intoxicațiile cu nitrați (NO_3^-) și nitriți (NO_2^-) proveniți din unele îngrășăminte chimice acumulate în plante determină transformarea hemoglobinei (Hb) în methemoglobină prin oxidarea Fe^{2+} din Hb în Fe^{3+}, proces însoțit de pierderea capacității Hb de a transporta O_2, producîndu-se astfel anoxie și anemii. Pe lîngă efectul lor methemoglobinizant, nitrații și nitriții inhibă transformarea carotinelor în vitamină *A*, precum și acumularea de iod în tiroidă; în astfel de intoxicații, s-au constatat scăderea fecundității, sterilitate, avorturi, diminuarea producției de lapte etc.

Compușii organofosforici utilizați ca insecticide manifestă acțiune anticolinesterazică; pătrunși în organism, aceștia inhibă colinesteraza, enzimă care produce hidroliza acetilcolinei: $CH_3—CO—O—CH_2—CH_2—N^+(CH_3)_3 \xrightarrow{HOH} CH_3COOH + HOCH_2—CH_2—N^+(CH_3)_3$. Acetilcolina acționează ca un mediator chimic ce intervine în transmiterea influxului nervos la joncțiunea neuromusculară. Prin inhibarea enzimei și respectiv a hidrolizei acetilcolinei de către compușii organofosforici, se produce acumularea de acetilcolină, care determină blocarea trecerii influxului nervos și afectarea contracției musculare.

Majoritatea substanțelor cu acțiune toxică pătrunse în organism sînt metabolizate, sediul principal de biotransformare fiind ficatul. Metabolizarea diferitelor substanțe implică reacții de oxidare, reducere, hidroliză, conjugare cu unii compuși endogeni, desalchilare, demetilare, desulfurare, dezaminare etc. la care participă echipamentul enzimatic din microzomi, mitocondrii, lizozomi, citoplasmă, precum și din microflora ruminală sau intestinală.

Eliminarea produșilor de metabolizare sau a unor substanțe netransformate se realizează pe cale renală, pulmonară, digestivă, prin piele sau glanda mamară.

În concluzie, între chimizarea agriculturii și zootehnie există o corelație directă, care impune necesitatea utilizării dirijate și controlate a îngrășămintelor chimice și pesticidelor, atît pentru realizarea unor sporuri de recoltă cît și pentru asigurarea stării de sănătate a animalelor de fermă. Eficiența incontestabilă a chimizării agriculturii trebuie să se reflecte și în zootehnie, prin producerea unor furaje echilibrate calitativ și sporite cantitativ, cu evitarea unor posibile efecte poluante și a incidenței unor stări de intoxicație. Astfel, chimizarea agriculturii trebuie să contribuie la creșterea efectivelor de animale și a productivității animaliere, în consens cu sarcinile preconizate pentru dezvoltarea în ritm susținut a zootehniei.

Scanned with OKEN Scanner

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

Anfinsen, C. B., Goldberger, R.F., Schechter, A.N. *Current topics in chemistry*. New York Academic Press, 1972.

Aubert, J. P., Dubert, J. M., Gros, F., Tavlitzki, J. *Introduction à la Biochimie*. Paris, Ed. Science, 1974.

Bell, G., Davidson, N., Emslie-Smith, D. *Textbook of Physiology and Biochemistry*. Edinburgh, Churchill Livingstone, 1972.

Bernhards, S. *The Structure and Function of Enzymes*. New York, 1968.

Biserte, G. *Histoire naturelle de la pathologie moléculaire*. Ann. Biol. Clin. Vol. 33, 1975.

Bohinski, R. C. *Modern Concepts in Biochemistry*. Boston, Allyn and Bacon, Inc., 1974.

Boyer, P. D. The Enzymes. New York, Acad. Press, 1970.

Buruiană, L. M. *Curs de chimie biologică*. București, Litografia Inst. agronomic „N. Bălcescu", 1968.

Boulanger, P., Jayle, M. F., Roche, J. *Exposés Annuales de Biochimie médicale*. Colloque sur les lipoproteines. Paris, Masson et Cie, 1972.

Boulanger, P., Polonovski, J., Tayeau, F., Mandel, P., Bister, G. *Biochimie médicale*. Fasc. I și II Paris, Masson et Cie, 1973.

Chapeville, F., Clauser, H. *Biochimie*. Paris, Hermann, 1974.

Conn, E., Stumpf, P. *Outlines of Biochemistry*. New York, John Wiley Inc., 1972.

Cristea, A., Tomas, E., Olinescu, R. *Procese bioenergetice și oxido-reducere enzimatică*. București, Editura științifică, 1974.

Cucuianu, M., Olinic, N., Goia, A., Fekete, T. *Biochimie clinică*, Vol. II. Cluj-Napoca, Editura Dacia, 1979.

Dautrevau, M., Ebel, J.P., Han, K.K., Louisot, P., Montreuil, J., Polonovski, J., Sezille, G., Vignais, P. *Problemes actuels de biochimie générale*. Paris, Masson et Cie, 1972.

Dickerson, R., Gies, I. *The Structure and Function of Proteins*. New York, Harper-Row Publ., 1969.

Dumitru, I., Mager, D., Turcu, A. *Biochimie generală*. București, Editura didactică și pedagogică, 1973.

Fodor, O. *Biologia moleculară și medicina modernă*. București, Editura medicală, vol. I/1969, vol. II/1970.

Hanc, O. și Padr, Z. *Chimie und Biologie der Hormone*. Jena, VEB Gustav Fischer Verlag, 1979.

Harper, H., Rodwell, V., Mayes, P. *Review of Physiological Chemistry*. Lange Med. Publ., Los Altos, California, 1977.

Scanned with OKEN Scanner

Javiller, M., Polonovski, M., Florkin, M., Boulanger, P., Lemoige, M., Roche, J., Wurmser, R. *Tratailé de biochimie générale*, vol. III. Paris, Masson et Cie, 1973.
Karlson, P. *Modern Biochemistry*. New York, San Francisco, London, Academic Press, Inc., 1975.
Koshland, D. E. *The Enzymes*. New York, London, Ed. P. Boyer, Acad. Press, 1970.
Lehninger, A. L. *Biochemistry*. New York, Worth Publ., 1976.
Mahler, H. R., Cordes, E. H. *Biological Chemistry*. New York, Harper Int. Ed., 1966.
Manta, I., Bedeleanu, D., Bâcleşan, C., Bîrzu, O., Jebeleanu, Gh. *Biochimie medicală*. Bucureşti, Editura didactică şi pedagogică, 1968.
Martin, V., Mihai, D. *Dismineralφzele la animale*. Bucureşti, Editura Ceres, 1979.
Metzler, D. E. *Biochemistry. The Chemical Reactions of Living Cells*. New York-San Francisco-London, Academic Press, 1977.
Montgomery, R. et al. *Biochemistry*. Saint Louis, C.V. Mosley Comp., 1977.
Stadtman, E. R. *Advances in Enzymology*. vol. 28, 1966.
Şerban, M. *Biochimia contracţiei musculare*. Bucureşti, Ed. Acad. R.S. România, 1970.
Şerban, M. *Biochimie animală. P.* I, vol. I şi II. Bucureşti, Atelierele de material didactic ale Institutului agronomic „N. Bălcescu", 1980.
Tămaş, V. *Biochimie animală*. Bucureşti, Editura didactică şi pedagogică, 1975.
Tămaş, V. *Biochimie veterinară*. P. a II-a, *Metabolism*. Cluj-Napoca, Atelierele de material didactic ale Institutului agronomic „Dr. Petru Groza", 1980.
Tămaş, V., Boitor, I. *Hormonii şi funcţiile lor biochimice*. Bucureşti, Editura Ceres, 1977.
Vuillaume, M. *Les pigments des invertébrés*. Paris, Masson et Cie, 1969.
Watson, J. D. *Biologia moleculară a genei*. Bucureşti, Editura ştiinţifică, 1974.
Weber, G. *Advances in Enzyme Regulation*. Vol. 1—6. Pergamon Press, 1963—1977.
*** *Annual Review of Biochemistry*. Vol. 38, 1968; vol. 39, 1970; vol. 42, 1974.
*** *The Enzymes*. New York, London, Ed. P. Boyer, Acad. Press, 1970.

Scanned with OKEN Scanner